PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN, G. TISCHLER-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND OTTO RENNER

41. BAND, 4. HEFT

MIT 61 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 18. APRIL 1953)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953

Planta (Berl.)

Preis DM 28.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe III. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim* oder an

Professor Dr. Otto Renner, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

---

41. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 4. Heft

Seite

Weber, H., Gramineen-Studien. IV. Mitteilung. Dorninfloreszenzen und Blattdornen bei Gräsern. Mit 7 Textabbildungen 311

Betz, A., Untersuchungen über Verhalten und Wirkung der Vitalfarbstoffe Prune pure und Akridinorange sowie Beobachtungen über das Reduktions-Oxydationspotential in Zellen höherer Pflanzen. Mit 20 Textabbildungen 323

Engel, W., Untersuchungen über die Kieselsäureverbindungen im Roggenhalm. Mit 4 Textabbildungen 358

Paech, K., und E. Krech, Über die Stärkebildung in den Plastiden. Mit 2 Textabbildungen 391

Libbert, E., Die Wirkung der Alkali- und Erdalkaliionen auf das Wurzelwachstum unter besonderer Berücksichtigung des Ionenantagonismus und seiner Abhängigkeit von Milieufaktoren. Mit 24 Textabbildungen 396

Ried, A., Photosynthese und Atmung bei xerostabilen und xerolabilen Krustenflechten in der Nachwirkung vorausgegangener Entquellungen. (Kurze Mitteilung.) Mit 4 Textabbildungen 436

Planta, Bd. 41, S. 311—322 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

GRAMINEEN-STUDIEN.

IV. Mitteilung.

DORNINFLORESZENZEN UND BLATTDORNEN BEI GRÄSERN.

Von

HANS WEBER.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. August 1952.)

Einleitung.

Dorninfloreszenzen sind schon mehrfach beschrieben worden. Doch beziehen sich die Schilderungen ausnahmslos auf dikotyle Pflanzen, insbesondere Sträucher und Halbsträucher, über die in neuerer Zeit RAUH (1942, S. 136ff.) nähere Mitteilungen gemacht hat. Demgegenüber tritt die Dornbildung im blühenden Bereich monokotyler Gewächse vollständig zurück; sie scheint auf wenige Gräser beschränkt zu sein, und zwar auf solche, die ausschließlich der südafrikanischen und der australischen Flora angehören. Es sind dies 2 *Eragrostis*-Arten, nämlich *E. spinosa* TRIN. und *E. cyperoides* BEAUV., die in der Literatur bis heute kaum Beachtung gefunden haben. Da es sich bei ihnen jedoch sowohl in morphologischer als auch in biologischer Hinsicht um sehr bemerkenswerte Gewächse handelt, soll in der vorliegenden Studie näher auf sie eingegangen werden. Dabei erhebt sich zugleich die Frage, inwieweit andere Gramineenorgane, vor allem die Blätter, dornartige Ausbildung erfahren können. Auch hierüber seien einige Beobachtungen mitgeteilt.

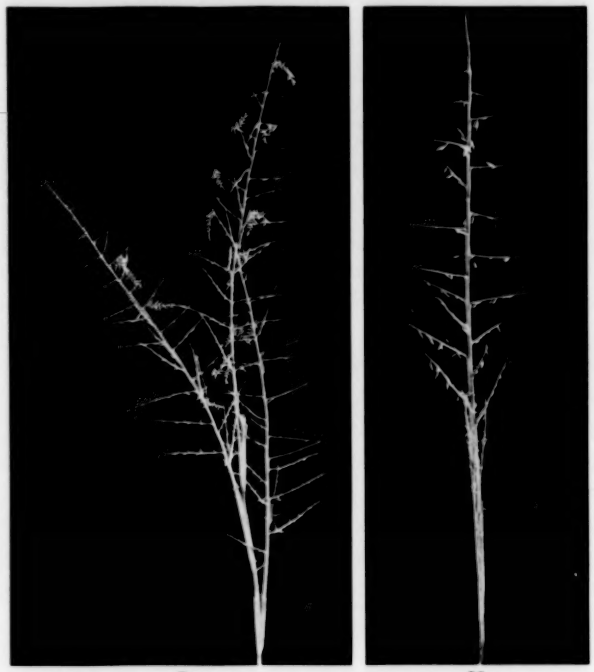
Das Untersuchungsmaterial habe ich einer Sammlung entnommen, die mir Herr Dr. GEORG BOSS in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt hat. Kontrollexemplare von *Eragrostis spinosa* überließ mir Herr Prof. SUESSENGUTH aus der Botanischen Staatssammlung München. Beiden Herren möchte ich auch an dieser Stelle danken.

I. Eragrostis spinosa TRIN.

1. Die Wuchsform. Dieses Gras, für das TRINIUS (1831, S. 416) eine kurze Diagnose gegeben hat, ist aus Südwestafrika bekannt geworden, wo es zur Vegetation der Sanddünen des Küstengebiets gehört. Nach ENGLER (1910, S. 523 und 533) kommt es in der Namib vielfach zusammen mit der bekannten Wüstenpflanze *Acanthosicyos horrida* vor, und DINTER (1923, S. 37) sah dort am „Fuße der roten Düne große Bestände bis 80 cm hoher blühender *Eragrostis spinosa*, deren spitzdornige Blätter und Infloreszenzzweige im rechten Winkel von der Hauptachse abstehen".

Infolge der starken Bedornung wird die Pflanze von jeglichem Weidevieh gänzlich gemieden. So wenig erschöpfend diese kurzen Angaben auch sind, so deuten sie doch auf die Eigenarten des Grases hin, die einer näheren Untersuchung bedürfen.

Bemerkenswert ist schon die Wuchsform. *E. spinosa* wächst in dichten reich blühenden Horsten, die durch wiederholte basale Ver-



I II

Abb. 1. *Eragrostis spinosa*. I Synfloreszenz. Die Ährchen sind zum großen Teil abgefallen. Der dornige Charakter der Blütenstandsäste tritt dadurch um so deutlicher in Erscheinung. Näheres im Text. II Einzelne Infloreszenz, in Entfaltung begriffen. Die basalen Äste sind noch an die Hauptachse angeschmiegt, das umhüllende Blattorgan ist entfernt. Etwa $^1/_2$ nat. Größe.

zweigung zustande kommen, wie dies auch von anderen horstbildenden Gräsern bekannt ist. Während aber dort die Bestockung, von wenigen Ausnahmen abgesehen[1], monopodialen Charakter trägt und nur an der Basis der Pflanzen aus Achselknospen heraus erfolgt, nimmt man im vorliegenden Fall neben dieser basalen Bestockung eine sympodiale Verzweigung der die Infloreszenzen tragenden Achsen wahr. Ein einzelner Trieb eines Horstes ist in Abb. 1, I, wiedergegeben. Wenn das Bild den Eindruck erweckt, es handele sich hier um einen einzigen

[1] Sympodienbildung ist z. B. am Rhizom von *Nardus stricta* zu beobachten, worauf IRMISCH (1855) näher eingegangen ist. Weiter zeigt *Bambusa vulgaris* einen sympodialen Rhizomaufbau (ARBER 1934, S. 67).

Blütenstand, so ist dies nur bedingt richtig, denn in Wirklichkeit liegt ein System von 3 Infloreszenzen vor. Der Trieb endet mit der Infloreszenz, die rechts zu erkennen ist. Aus der Achsel eines Blattes, das dieser vorausgeht, ist ein Seitentrieb entstanden, der wiederum zu einem Blütenstand ausgewachsen ist und der die Endinfloreszenz

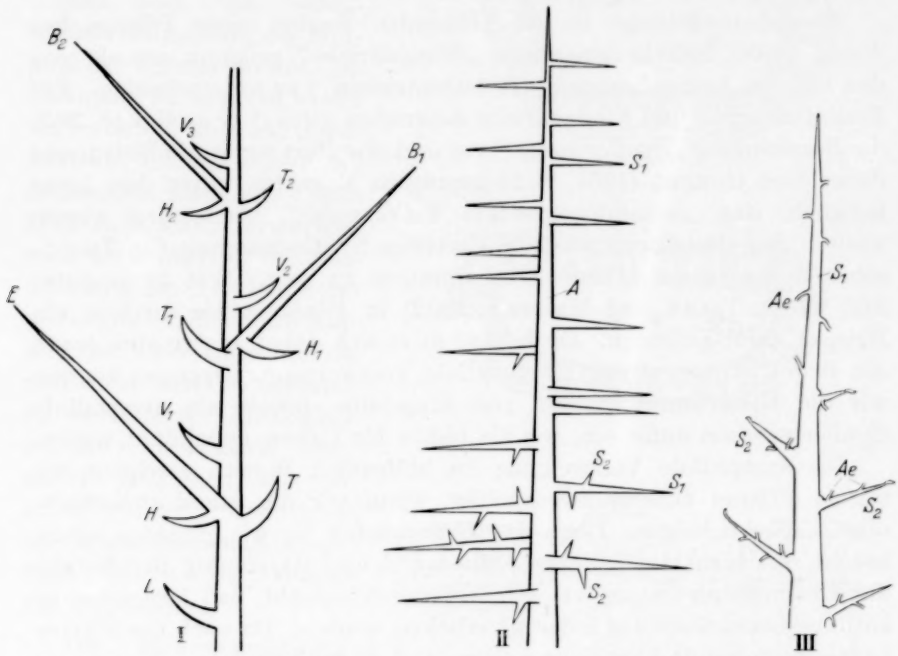


Abb. 2. *Eragrostis spinosa*. I Schema des Synfloreszenzaufbaues. Von den Einzelinfloreszenzen (E, B_n) sind nur die Hauptachsen gezeichnet. Weitere Erklärung im Text. II Schema einer radiären Einzelinfloreszenz. A Infloreszenzachse, S_1 Seitenäste erster Ordnung, S_2 Seitenäste zweiter Ordnung. Die Ährchen sind nicht berücksichtigt. III Dorsiventraler Infloreszenzast erster Ordnung (S_1) mit seinen Verzweigungen (S_2). Von den Ährchen (Ae) sind lediglich die kurzen Stiele gezeichnet.

überflügelt (links im Bild). In dieser Weise kann die Verzweigung weitergehen mit dem Erfolg, daß die zuletzt entwickelten Infloreszenzen immer die vorhergehenden mehr oder weniger überragen. Diese Verhältnisse mögen durch das Schema in Abb. 2, I, verdeutlicht werden, das auch die Stellung der Blattorgane zeigt, die sich an den einzelnen Sympodialgliedern befinden. Mit T sind jeweils die Tragblätter, mit V die Vorblätter und mit H die den Infloreszenzen unmittelbar vorausgehenden Hochblätter bezeichnet. Diese Blattfolge ist nicht immer streng eingehalten, scheint aber die Regel zu sein. Zuweilen sind zwischen T_n und V_n noch ein oder mehrere zweizeilig gestellte Blätter eingeschaltet. Alle diese Blattorgane sind stark reduziert; auf sie wird auf

S. 320 noch eingegangen. Wenn wir die zuerst gebildete Infloreszenz als Endinfloreszenz (E) betrachten, müssen wir die folgenden als sympodiale Bereicherungstriebe (V_n) auffassen, von denen jeder um 90° gegen den vorhergehenden versetzt ist. Allerdings konnte an dem verfügbaren Material nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob die Verzweigung schraubelig oder wickelig verläuft.

Bereicherungstriebe in der blühenden Region einer Pflanze hat TROLL (1950, S. 381) neuerdings „Stengeltriebe" genannt, um sie von den basalen Auszweigungen („Rosettentrieben") zu unterscheiden. Für Endinfloreszenz und Stengeltriebe zusammen schlägt er weiter (S. 383) die Bezeichnung „Synfloreszenz" vor und erweitert somit die Bedeutung dieses von GOEBEL (1931, S. 2) geprägten Begriffes, unter dem jener lediglich eine „zusammengesetzte Infloreszenz" verstanden wissen wollte. Bei Gramineen scheinen derartige Synfloreszenzen (im TROLL-schen Sinne) recht seltene Erscheinungen zu sein. Erst in jüngster Zeit haben TROLL und MEISTER (1952) in *Phyllorhachis sagittata* ein Beispiel dafür gefunden. Doch handelt es sich dabei, wie es auch sonst die Regel ist, um streng monopodiale Verzweigung. Dagegen können wir die Blütenstandssysteme von *Eragrostis spinosa* als sympodiale Synfloreszenzen auffassen, wie sie bisher für Gräser unbekannt waren.

Die sympodiale Verzweigung im blühenden Bereich erscheint für unsere Pflanze äußerst zweckmäßig, wenn wir die Standortsverhältnisse berücksichtigen. Denn das Gras wächst ja, wie eingangs schon betont, im leicht beweglichen Dünensand und ist ständig der Gefahr der Überwehung ausgesetzt, der es dadurch entgeht, daß laufend neue Infloreszenzen über das Substrat erhoben werden. Da auch die Blätter häufig vom Sande überdeckt werden und diese außerdem schon wegen ihrer geringen Entwicklung für die Assimilationsleistung wenig bedeutungsvoll sind, müssen die Infloreszenzachsen weitgehend selbst die Kohlenstoffernährung übernehmen. Dazu sind sie tatsächlich in besonderer Weise geeignet, wie es die folgenden Ausführungen unter anderem zeigen mögen.

2. Die Infloreszenz. Die einzelne Infloreszenz (als Glied einer Synfloreszenz) stellt im entwickelten Zustand eine stark verlängerte, bis 30 cm lange Achse dar, an der sich bis zu 45 tragblattlose Seitenäste erster Ordnung (Partialinfloreszenzen) befinden, von denen die unteren noch einmal schwach verzweigt sein können (Abb. 2, II). An diesen Auszweigungen erster bzw. zweiter Ordnung sitzen schließlich die kurzgestielten Ährchen. Die Infloreszenzhauptachse ist in jedem Fall radiär gebaut und gliedert demzufolge die Seitenäste zerstreut und allseitig aus. Wenn auch genauere entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen noch ausstehen, so kann doch mit Sicherheit gesagt werden, daß die Anlegung der Partialinfloreszenzen nach dem selten zu beobachtenden *Umbellata-*

Typus (WEBER 1938, S. 282) erfolgt. Als Besonderheit gegenüber anderen derartigen Gräsern (etwa *Chloris*, *Eleusine*, *Andropogon*) kommt freilich noch die bedeutende Verlängerung der Mutterachse hinzu, womit ein Übergang zu dem viel weiter verbreiteten, aber auf dorsiventrale Infloreszenzen beschränkten *Racemosa*-Typus hergestellt wird. Im übrigen muß sich während der Entwicklung eines jeden Sympodialgliedes innerhalb kurzer Zeit eine Umstimmung von dorsiventraler (zweizeilig beblätterter Anfangsabschnitt!) zu radiärer Symmetrie vollziehen, was vermutlich auf eine Erstarkung des Vegetationspunktes zurückzuführen ist (WEBER 1939, S. 445).

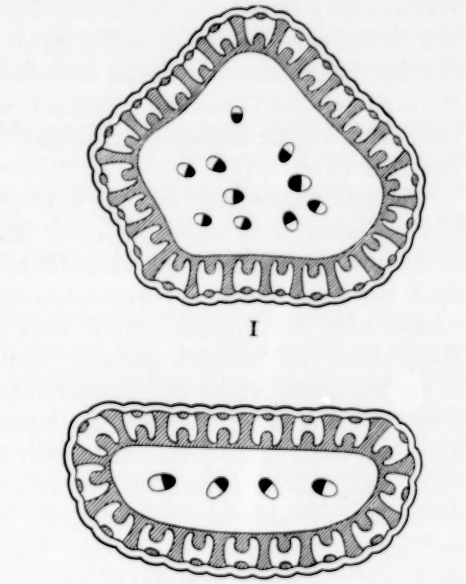


Abb. 3. *Eragrostis spinosa*. I Querschnitt durch eine Infloreszenzachse, deren Gliederung in Zentralkörper und Rinde zeigend. II Querschnitt durch einen Seitenast erster Ordnung. Die sklerenchymatischen Teile sowie die rindenständigen Leitbündel sind schraffiert. III Ausschnitt aus der Rindenregion, stärker vergrößert (das Assimilationsparenchym ist schematisiert wiedergegeben). Erläuterung im Text.

Die Infloreszenzhauptachse endet stets blind, und zwar in Gestalt eines harten spitzen Dorns. Trotz des grundsätzlich radiären Baues zeigt der Achsenkörper auf dem Querschnitt Abflachungen oder leichte Einwölbungen (Abb. 3, I); es sind dies jeweils die Flächen, an die die Seitenzweige in der Knospenlage angepreßt bzw. schwach eingesenkt waren. Diese Äste werden akropetal angelegt und wachsen zunächst aufwärts an der Mutterachse entlang, wie es Abb. 6, I in einem Ausschnitt zeigt, und erreichen so annähernd ihre volle Größe. Erst wenn die ganze Infloreszenz sich infolge von Internodienstreckung der

Hauptachse aus dem umhüllenden Hochblatt herausschiebt, spreizen sich die Seitenzweige durch die Tätigkeit eines an ihrer Basis befindlichen Gelenks waagerecht ab, um dann zeitlebens in dieser Stellung zu verharren. Wo es zu weiterer Verzweigung kommt, wiederholen sich solche Vorgänge. Die Entfaltung der Infloreszenzzweige erfolgt, wie auch sonst bei Gräsern, basipetal (Abb. 1, II).

Die Seitenäste erster Ordnung haben mit der Mutterachse das gemein, daß sie sämtlich in außerordentlich harte Dornspitzen auslaufen und so in ihrer Gesamtheit im wesentlichen die Dorninfloreszenz liefern. Auch bei ihnen bleibt der Vegetationspunkt selber steril, d. h. er entwickelt kein Endährchen. Sonst aber unterscheiden sie sich von der Hauptachse grundsätzlich dadurch, daß sie deutlich dorsiventral, d. h. in der Transversalebene stark abgeflacht sind. Insbesondere ihre Oberseite ist völlig plan, wogegen die Unterseite eine schwache Wölbung aufweisen kann (Abb. 3, II). Mit dieser Dorsiventralität hängt es wieder zusammen, daß die Seitenäste zweiter Ordnung bzw. die Ährchen streng zweizeilig, und zwar an den schmalen Flanken inseriert sind. Ähnlich verbreiterte, geradezu blattartige Partialinfloreszenzen sind uns ja auch von manchen anderen Gräsern her bekannt, insbesondere von *Paspalum*-Arten (HELM 1934, S. 78; WEBER 1939, S. 447), doch stehen bei diesen die Ährchen auf der Unterseite, wo sie von den Achsenflügeln überdeckt werden.

Seitenäste zweiter Ordnung schließlich sind bei *Eragrostis spinosa* nur an den ältesten und kräftigsten Seitenachsen erster Ordnung zu beobachten. Wie diese sind sie dorsiventral und dornig, bleiben jedoch stets kurz und tragen an ihren Flanken nur wenige Ährchen. Stets aber schließen sie mit der Bildung eines Endährchens ab, was bei den Mutterachsen nicht der Fall ist (Abb. 2, II—III und Abb. 6, I).

Bevor wir auf die Ährchen eingehen, seien einige Angaben über den anatomischen Bau der Infloreszenzachsen eingefügt, der schon deshalb von Interesse ist, weil jene ja weitgehend die Funktion von Blättern übernehmen müssen. Für Haupt- und Seitenachsen ergibt sich grundsätzlich das gleiche Bild. Sie weisen einen chlorophyllfreien parenchymatischen Zentralkörper auf, in den eine Anzahl kollateraler Leitbündel zerstreut eingelagert ist, und eine grüne Rindenzone, die der Assimilation und der Festigung dient. Die Rinde beansprucht ihrer Eigenart wegen besondere Beachtung. Unter einer mit dicker Kutikula überzogenen Epidermis befinden sich in regelmäßigen Abständen starke sklerenchymatische Träger, die an ihrer Basis durch ebenfalls sklerenchymatische Zellen verbunden sind (Abb. 3, I—III). In den so gebildeten „Kammern" verläuft je ein Leitbündel, das von einer im Querschnitt hufeisenförmigen Parenchymscheide umgeben ist. An deren große, völlig farblose Zellen schließt das Chlorenchym an, dessen zartwandige Ele-

mente sich in radialer Richtung erstrecken („Kranztypus" HABERLANDTs, 1924, S. 264). Die Verbindung dieser Assimilationsbereiche mit der Außenwelt wird durch tief eingesenkte Spaltöffnungen hergestellt.

Im Spitzenbereich der Infloreszenzachse und ihrer Seitenäste erfährt bei gleichzeitiger Verminderung der Leitbündel der parenchymatische Zentralkörper eine immer stärker werdende Reduktion, so daß die sklerenchymatische Rinde jetzt den Hauptteil des Querschnittes ausmacht und so auch die dornige Beschaffenheit der Sproßenden verständlich werden läßt.

Im ganzen gesehen zeigt die Achsenrinde bei *Eragrostis* einen Aufbau, wie er in abgewandelter Weise auch an der Blattspreite zu erkennen ist, wogegen das Unterblatt einfachere Verhältnisse aufweist. Näher auf die Blattanatomie einzugehen erübrigt sich, da schon VOLKENS (1887) für einige Wüstengräser ähnliche Befunde zur Darstellung gebracht und LOHAUSS (1905) solche Schilderungen für verschiedene andere Festuceen gegeben hat. Aber bei der Betrachtung derartiger Bilder, wie sie für den Querschnitt durch die Infloreszenzachsen der von uns behandelten *Eragrostis*-Arten vorliegen, drängt sich doch die Frage auf, ob wir es hier mit einer Sproßberindung durch herablaufende Blattbasen zu tun haben. Denn in der Tat gewinnt man beim vergleichenden Studium der Sproß- und Blattanatomie den Eindruck, daß auf dem zentralen Achsenkörper eine Blattfläche aufsitzt, die mit diesem verwachsen ist. Das mag für den Inflorenzenzbereich der Gramineen überraschend erscheinen, da ja Tragblätter völlig fehlen. Wenn man aber bedenkt, daß bei anderen Pflanzen mit extrem reduzierten Blattspreiten, z. B. *Salicornia*, eine derartige Berindung nachgewiesen ist, so liegt in unserem Fall die Vermutung nahe, daß die Reduktion des Oberblattes bis zu dessen vollständigem Verschwinden durchgeführt ist und nur die mit der Achse verwachsene und an ihr herab laufende Blattbasis übrigbleibt. Zieht man also dieses Berindungsphänomen[1], auf das in anderem Zusammenhang schon HOFMEISTER (1851) hingewiesen hat, in Betracht, so erscheinen die Infloreszenzachsen der Gräser in Wirklichkeit gar nicht tragblattlos. Tragblätter liegen vielmehr vor, nur ist deren Oberblattanteil völlig unterdrückt, während ihre Basis mit der Achse verbunden ist. Freilich muß diese These an einem umfangreicheren Material geprüft werden, was einer besonderen Studie vorbehalten bleiben soll.

Schließlich sei kurz auf die letzten Auszweigungen der Blütenstandsachse, die Ährchen, hingewiesen. Sie finden sich zahlreich in zweizeilig-alternierender Anordnung an den Flanken der Infloreszenzäste. Ihre Blütenzahl variiert stark. TRINIUS (1831, S. 416) gibt deren 7—9 an. Diese Angabe ist aber zu niedrig gegriffen; ich konnte häufig bis zu

[1] Eine Gesamtdarstellung darüber findet sich bei TROLL (1937, S. 263).

18 Blüten zählen. Daneben aber gibt es Ährchen, deren Blütenzahl kleiner als 7 ist. Die Ährchen verbleiben nur kurze Zeit an den Infloreszenzen; sie lösen sich leicht ab und zerbrechen dabei häufig in die Einzelblüten. Infolge dieses frühzeitigen Ährchenfalles tritt der dornig-sparrige Charakter der persistierenden Blütenstandsäste ganz besonders deutlich hervor.

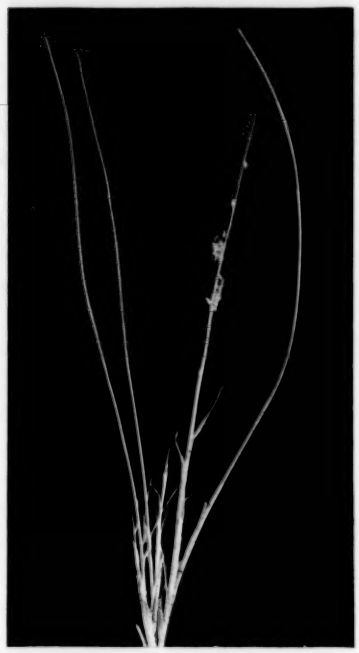


Abb. 4. *Eragrostis cyperoides*. Vier Bestockungstriebe, die zur Infloreszenzbildung geschritten sind. Vollständig ist nur die kleinere Infloreszenz in der Mitte, die übrigen sind oben abgeschnitten. Näheres im Text. Etwa $^1/_2$ nat. Größe.

II. Eragrostis cyperoides BEAUV.

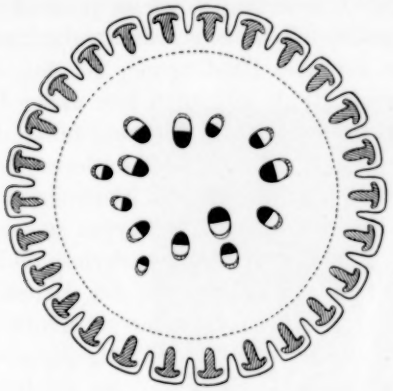
Die Pflanze kommt an ähnlichen Standorten vor, wie sie für *Eragrostis spinosa* geschildert worden sind. Auch sie bildet dichte Horste, die eine große Zahl normaler Bestockungstriebe zeigen. Während die Blätter wiederum klein bleiben, wächst jeder Vegetationspunkt zu einer langen, steifen, wenig verzweigten Infloreszenzachse aus, die mit einer dornigen Spitze abschließt (Abb. 4). In einigen Fällen wurde ein wenigblütiges Endährchen gefunden; es ist wahrscheinlich, daß ein solches regelmäßig angelegt wird (im Gegensatz zu *E. spinosa*), doch fällt es in den meisten Fällen sehr bald ab. Diese Blütenstandstriebe werden bis zu 80 cm lang und verleihen der Pflanze in ihrer Gesamtheit einen igelartigen Habitus.

Die Einzelinfloreszenzen stimmen in ihrem Aufbau weitgehend mit denen von *E. spinosa* überein, sind diesen gegenüber jedoch stark verarmt. Im Grunde handelt es sich nur um eine Verschiebung der Proportionen und um eine Änderung der Zahlenverhältnisse („Prinzip der variablen Proportionen" nach TROLL 1948, S. 43). Die Hauptachsen sind wiederum radiär, tragen aber in allseitiger Anordnung nur wenige dornige Seitenäste erster Ordnung, die zudem weit voneinander entfernt stehen. Im apikalen Bereich werden — bei zunehmender Schwächung des Vegetationspunktes — nur noch einzelne kurzgestielte Ährchen ausgegliedert.

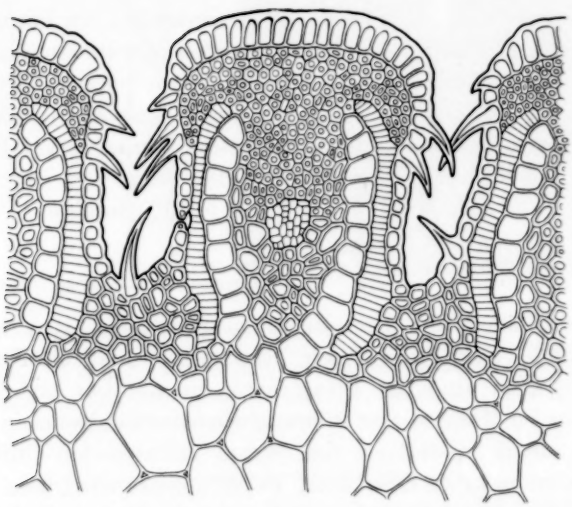
Die genannten Infloreszenzzweige sind schwach dorsiventral und bilden an ihrer Basis wiederum kurze, zweizeilig gestellte Seitenäste zweiter Ordnung. Im oberen Teil dagegen kommt es nur noch zur Bildung

einzelner Ährchen. Mit der Ausgliederung eines Endährchens schließen sämtliche Seitenäste ihr Wachstum ab.

Während die Hauptachse nur eine sehr lockere Verzweigung zeigt, erfolgt diese an den Seitenästen außerordentlich gedrängt. Auch die



I



II

Abb. 5. *Eragrostis cyperoides.* I Querschnitt durch die Infloreszenzachse. Wie in Abb. 3, I—II sind die sklerenchymatischen Teile und die Rindenleitbündel schraffiert. II Ausschnitt aus der Rindenzone bei stärkerer Vergrößerung. Beschreibung im Text.

zweizeilig-alternierend angelegten Ährchen stehen hier dicht beieinander, so daß im ganzen knäuelartige Partialinfloreszenzen zustande kommen. Dieser Eindruck wird noch dadurch verstärkt, daß die bis zu achtblütigen Ährchen selber sehr gedrungen sind und auch im

ausgereiften Zustand keineswegs die durch Streckung der Ährchenachse bedingte Auflockerung zeigen, wie sie für *E. spinosa* charakteristisch ist.

Recht beachtenswert sind wieder die anatomischen Verhältnisse der Infloreszenzachsen. Sie zeigen, ebenso wie bei dem erstbehandelten Gras, eine deutliche Gliederung in einen parenchymatischen Zentralkörper, der eine größere Zahl zerstreut angeordneter Leitbündel aufweist, und in eine schmale Rindenzone, die das Assimilationsgewebe birgt (Abb. 5). Dieser Rinde gilt auch hier unser Interesse. Sie ist in zahlreiche längs verlaufende Streifen aufgeteilt, die nur enge Lufträume zwischen sich frei lassen. Allein in deren Bereich befinden sich Spaltöffnungen, die den Zugang zum Chlorenchym vermitteln. Dieses ist wie bei *E. spinosa* nach dem Kranztypus gebaut und schließt hier ebenfalls an eine chlorophyllfreie Parenchymscheide an, die ihrerseits ein Leitbündel umgibt. Allerdings ist der Palisadenkranz nicht geschlossen, sondern in zwei von einander getrennte Bereiche aufgeteilt. Der Rest der Rindenleisten wird von Festigungsgewebe ausgefüllt, das nach außen in einer großzelligen, von einer mächtigen Kutikula überdeckten Epidermis seinen Abschluß findet. Nur im Bereich des Atemraumes, wie wir den jeweils zwischen 2 Leisten gelegenen Bezirk nennen wollen, wachsen einzelne Epidermiszellen zu kurzen Borstenhaaren aus, die den an sich schon großen Verdunstungsschutz noch weiter erhöhen. In den Achsenenden schwindet, wiederum wie bei *E. spinosa*, mehr und mehr der parenchymatische Zentralkörper, so daß die sklerenchymatischen Teile des Sprosses immer stärker hervortreten und so zur Verdornung führen. Was die Frage der Sproßberindung betrifft, so gilt auch hier das bereits auf S. 317 Gesagte.

III. Die Blattdornen von Eragrostis spinosa und Eragrostis cyperoides.

Auf die Blätter der hier studierten *Eragrostis*-Arten wurde schon verschiedentlich kurz hingewiesen. Sie bedürfen noch einer Erläuterung. In beiden Fällen sind die Blattorgane unscheinbar und treten auch zahlenmäßig im Habitus der Pflanzen zurück. Sie bestehen im wesentlichen aus einem scheidigen, den Sproß umfassenden Unterblatt und einem stark reduzierten Oberblatt. Bei *E. spinosa* wird dieses kaum 1 cm lang. Es ist zumindest während der ganzen Trockenheit nach oben eingerollt und nahezu waagerecht abgespreizt, so im ganzen einen sehr harten Dorn bildend. Schon an jungen Trieben tritt dieses Verhalten mit aller Deutlichkeit in Erscheinung (Abb. 6, II). *E. cyperoides* verhält sich ganz ähnlich, nur werden die Blätter hier etwas länger. Bei beiden Arten haben die Blattorgane, wie schon betont, für die Assimilation nur eine geringe Bedeutung, zumal sie häufig vom Sand überschüttet werden.

Zur Ergänzung sei noch eine andere Graminee aus der südwestafrikanischen Flora genannt, die sich ebenfalls durch Dornenblätter auszeichnet. Es ist dies die kleinere *Diplachne paucinervis* STAPF, die im brackigen Küstengebiet vorkommt. Wie Abb. 7 zeigt, sind deren Sprosse reich beblättert. Aber auch hier ist es jeweils das Oberblatt, das durch nach oben erfolgende Einrollung dornartige Beschaffenheit annimmt.

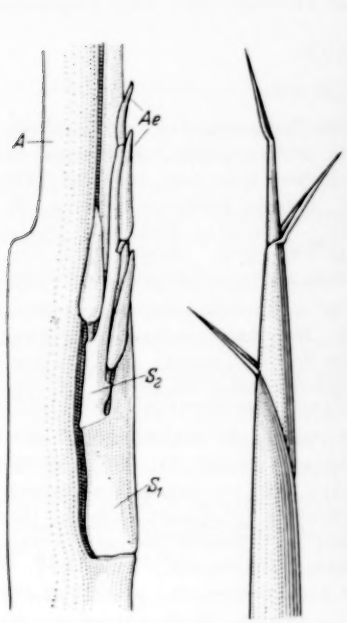


Abb. 6.

Abb. 7.

Abb. 6. *Eragrostis spinosa*. I Teil einer jungen, noch in Knospenlage befindlichen Infloreszenz. Beschriftung wie in Abb. 2, II. II Junger Trieb, die Blattgestaltung zeigend. Jedes Blattorgan weist ein scheidiges Unterblatt auf und ein reduziertes dornartiges Oberblatt.

Abb. 7. *Diplachne paucinervis*. Die Triebe sind reich beblättert. Jede Blattspreite zeigt dornartige Beschaffenheit. Etwa $^4/_5$ nat. Größe.

Zusammenfassung.

1. Dornbildung im blühenden Bereich monokotyler Gewächse scheint auf wenige Gräser beschränkt zu sein. *Eragrostis spinosa* TRIN. und *E. cyperoides* BEAUV. werden als Beispiele erörtert.

2. Die Infloreszenzsysteme von *E. spinosa* erweisen sich als sympodiale Synfloreszenzen. Sämtliche Infloreszenzäste sind dornartig entwickelt.

3. Die ebenfalls dornigen Blütenstände von *E. cyperoides* sind denen von *E. spinosa* gegenüber stark verarmt.

4. Die Infloreszenzachsen und deren Auszweigungen sind wesentlich an der Assimilationsleistung beteiligt. Chlorophyllführend ist allein die Rindenzone, deren anatomischer Bau erläutert wird. Auf die Berindungstheorie wird hingewiesen.

5. Bei beiden Gräsern erfahren die Blattorgane nur eine geringe Entwicklung. Das reduzierte Oberblatt weist dornartige Beschaffenheit auf.

6. Als weiteres Beispiel für ein Gras mit Dornblättern wird *Diplachne paucinervis* genannt.

Literatur.

ARBER, A.: The Gramineae. A study of Cereal, Bamboo and Grass. Cambridge 1934. — DINTER, K.: Succulentenforschung in Südwestafrika. Erlebnisse und Ergebnisse meiner Reise im Jahre 1922. Feddes Repert. spec. nov., Beih. **23** (1923). ENGLER, A.: Die Pflanzenwelt Afrikas, Bd. I. Leipzig 1910. — GOEBEL, K.: Blütenbildung und Sproßgestaltung. Jena 1931. — HABERLANDT, G.: Physiologische Pflanzenanatomie, 6. Aufl. Leipzig 1924. — HELM, J.: Über Baueigentümlichkeiten der Infloreszenzen einiger tropischer Gräser. Flora (Jena) **29**, 53 (1934). IRMISCH, TH.: Morphologische Mitteilungen über die Verzweigung einiger Monocotyledonen. Bot. Ztg **13** (1855). — LOHAUSS, K.: Der anatomische Bau der Laubblätter der Festuceen und deren Bedeutung für die Systematik. Bibl. botanica **1905**, H. 63. — RAUH, W.: Beiträge zur Morphologie der Holzgewächse. II. Morphologische Beobachtungen an Dorngehölzen. Bot. Archiv **43**, 111 (1942). — TRINIUS, C. B.: Graminum genera quaedam speciesque complures definitionibus novis. Mém. Acad. Sci. St. Pétersbourg, 6. Sér. **1**, 352 (1831). — TROLL, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1/1. Berlin 1937. — Allgemeine Botanik. Ein Lehrbuch auf vergleichend-biologischer Grundlage. Stuttgart 1948. — Über den Infloreszenzbegriff und seine Anwendung auf die blühende Region krautiger Pflanzen. Abh. Akad. Wiss. u. Lit. Mainz, Math.-naturwiss. Kl. **1950**, 377. — TROLL, W., u. A. MEISTER: Bau und Entwicklung der Infloreszenz von *Phyllorhachis sagittata Trim.* Abh. Akad. Wiss. u. Lit. Mainz, Math.-naturwiss. Kl. **1952**, 87. — VOLKENS, G.: Die Flora der ägyptisch-arabischen Wüste. Berlin 1887. — WEBER, H.: Gramineen-Studien. I. Über das Verhalten des Gramineen-Vegetationskegels beim Übergang zur Infloreszenzbildung. Planta (Berl.) **28**, 275 (1938). — Graminen-Studien. II. Über Entwicklungsgeschichte und Symmetrie einiger Grasinflorenszenzen. Planta (Berl.) **29**, 427 (1939).

Prof. Dr. H. WEBER, Botanisches Institut der Universität Mainz.

Planta, Bd. 41, S. 323—357 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER VERHALTEN UND WIRKUNG DER VITALFARBSTOFFE PRUNE PURE UND AKRIDINORANGE SOWIE BEOBACHTUNGEN ÜBER DAS REDUKTIONS-OXYDATIONSPOTENTIAL IN ZELLEN HÖHERER PFLANZEN.

Von

AUGUSTIN BETZ.

Mit 20 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. September 1952.)

A. Einleitung.

Der Akridinfarbstoff Trypaflavin gilt seit langem als Mitosegift (DUSTIN 1925, BUCHER 1939, LETTRÉ 1941, BRODERSEN 1943). An pflanzlichen Objekten analysierten BAUCH (1947) und HOHL (1949) seine Wirkung genauer. BAUCH (1947) bezeichnet ihn als typisches Chromosomengift, denn zwischen der toxischen Konzentration und völlig unwirksamer Verdünnung liegt ein breiter Bereich, in dem die exponierten Organe zwar nicht getötet werden, aber doch ein Einfluß auf die Karyokinese festzustellen ist. Neben einer Behinderung des Eintrittes in die Zellteilung ist der Effekt durch Verklebungen und daraus folgende Veränderungen an den Chromosomen gekennzeichnet.

Basische Vitalfarbstoffe allgemein, im besonderen aber Prune pure und Akridinorange, werden nach STRUGGER (1932, 1935, 1940, 1949), wenn überhaupt innerhalb des Kernes, so nur am Karyotin oder Chromatin gebunden. Eine solche bevorzugte Speicherung in den nukleinsäurehaltigen Strukturen würde es verständlich machen, daß an sich giftige Farbstoffe in genügender Verdünnung einen spezifischen Einfluß auf die genannten Zellkomponenten auszuüben vermögen. Prune pure und Akridinorange sind als wenig schädliche vitale Kern- und Plasmafarbstoffe bekannt. Für letzteres wird dies von STRUGGER (1949) sehr betont, während die Versuche von GROHROCK (1934) die geringe Schädlichkeit des Prune pure dartun. Somit dürften sich beide Farbstoffe besonders zur Prüfung der Frage eignen, ob ein Zusammenhang zwischen Speicherungsort und antimitotischer Wirkung besteht.

LETTRÉ (1946, 1948) beobachtete, daß der Effekt des Trypaflavins ausbleibt, wenn von außen gleichzeitig Nukleinsäure geboten wird. Daraus und aus der seit WAGNER-JAUREGG (1936) und MCILWAIN (1941) bekannten Eigenschaft der Nukleinsäure (und einiger ihrer Spaltprodukte), mit Akridinfarbstoffen schwerlösliche Verbindungen einzugehen, schließt LETTRÉ (1946), Trypaflavin wirke durch Salzbildung mit

den nukleinsäurehaltigen Strukturen der Zelle, indem es dort andere wesentliche Substanzen verdränge. Die Größe des Moleküls und die Vielzahl polarer Gruppen in ihr machen es aber unseres Erachtens äußerst unwahrscheinlich, die Nukleinsäure könne von außen her in Zellen höherer Pflanzen permeieren. Nun weist die Beobachtung HOHLS (1949), wonach die Anfärbung von *Vicia faba*-Wurzeln unterbleibt, wenn Trypaflavin und Nukleinsäure gleichzeitig dargeboten werden, auf eine Reaktion schon in der Außenlösung hin. Nur wenn durch Darbietung von Nukleinsäure von außen die Giftwirkung des bereits gespeicherten Farbstoffes vermindert wird, wäre der von LETTRÉ (1946) behauptete Antagonismus bewiesen und damit zugleich eine Aufnahme von Nukleinsäure in die Zelle dargetan. Das intensiv gefärbte Akridinorange dürfte geeigneter als das blassere Trypaflavin sein, um diese Frage zu prüfen.

BECKER (1932, 1933) vermutet eine kausale Beziehung zwischen der antimitotischen Wirksamkeit und dem Redoxpotential der Agentien. Leicht reduzierbare Farbstoffe sollen, die Oxydation in der Zelle steigernd, die Viskosität des Plasmas erhöhen und auf diese Weise den Teilungsablauf stören; Farbstoffe, deren Potential ihre Reduktion in der Zelle ausschließt, sollen bedeutend weniger wirksam sein. Es erscheint daher notwendig, auch diese Verhältnisse bei den geprüften Farbstoffen zu beachten, um so mehr, als nach MICHAELIS (1933) das dem Prune pure chemisch sehr nahestehende, aber leider nicht permeierfähige Gallocyanin ein Potential zeigt, welches eine Reduktion dieses Farbstoffes in lebenden Zellen erlauben dürfte.

Einzelne der hier zu besprechenden Fragen wurden inzwischen auch von anderer Seite bearbeitet, was erst nach Abschluß der entsprechenden eigenen Versuche bekannt wurde. Der Mitoseeffekt des Akridinorange, von LETTRÉ (1950, S. 428) bestritten, wird von D'AMATO (1950) beschrieben. Die bisher nur in Referaten zugänglichen Ergebnisse scheinen mit den unsrigen grundsätzlich übereinzustimmen. Auch BAUCH (1949) erwähnt beiläufig den Akridinorange-Effekt. Über den Einfluß von Nukleinsäure auf die Zellteilung, der selbstverständlich als Kontrolle zu den Versuchen über die Verminderung der Farbstoffwirkung geprüft werden mußte, äußern sich KODANI (1948) und BATTAGLIA (1950). Beziehungen zwischen Speicherungsort und Wirksamkeit des Trypaflavins und eine Analyse der sog. Wirkungsaufhebung durch Nukleinsäure beschreibt BAUCH (1949). Da unsere entsprechenden Versuche mit Akridinorange davon unabhängig und mit wesentlich anderer Methodik ausgeführt wurden, so bekräftigen sie um so entschiedener das grundsätzlich ähnliche Verhalten beider Akridinfarbstoffe.

B. Speicherung von Prune pure und Akridinorange.

Seit PFEFFER (1886) ist bekannt, daß die lebende Zelle Anilinfarben aus sehr verdünnten Lösungen aufnehmen und weit über den Konzentrationsausgleich im Zellinnern anreichern kann. Für toxikologische

Untersuchungen muß gerade die Innenkonzentration des verwendeten Stoffes von entscheidender Bedeutung sein (vgl. auch FERGUSON 1939). Konnte PFEFFER (1886) das im Zellsaft von *Lemna minor* gebundene Methylenblau als $\sim$ 10000fach konzentrierter als in der Außenlösung schätzen, so erscheint es zwar bei Plasmafarbstoffen wegen der geringen Schichtdicke zu unsicher, Zahlen anzugeben, aber auf bedeutende Anreicherung weist die Färbung eindringlich hin. Als weiteren Vorteil erlauben Farbstoffe ihren Verbleib innerhalb des Gewebes und sogar in den einzelnen Komponenten der Zelle festzustellen. Schon PFEFFER (1886) fand, daß das Vordringen eines Farbstoffes in die inneren Zellen durch umhüllende Zellagen verlangsamt wird. An Querschnitten durch gefärbte Wurzelspitzen oder an uhrglasförmig abgenommenen Flächenschnitten von Zwiebelepidermis und nachfolgender Färbung (z. B. mit Prune pure) läßt sich dies leicht verfolgen. Werden ganze Organe von unterschiedlicher Dicke, z. B. Wurzelspitzen, gefärbt, so kann in dünnen Organen ein höherer Prozentsatz von Zellen das Speicherungsmaximum erreichen als in dicken. Hierin ist eine der Ursachen für die oft nicht unerhebliche Streuung von Versuchsergebnissen zu suchen. Im folgenden soll der Verbleib der zu prüfenden Farbstoffe innerhalb der Zelle betrachtet werden.

1. Speicherung von Prune pure.

Der Oxazinfarbstoff Prune pure (Nr. 1008 der Farbstofftabellen von SCHULTZ 1931) wurde von RUHLAND (1908, 1912) in die Zellphysiologie eingeführt und seither vielfach benützt (SCHAEDE 1923, KÜSTER 1933, SCHÖNLEBER 1936, BANK 1938, DRAWERT 1938, ARNOLD 1938; physikalisch-chemische Daten besonders bei den beiden letztgenannten Autoren). Seine Bedeutung liegt darin, daß er Zytoplasma und Kern lebender Zellen diffus und gleichmäßig blau bis tief blauviolett zu färben vermag. Seit RUHLAND (1908) ist das verschiedene Verhalten von oberer und unterer Epidermis der Zwiebelschuppe bekannt, deren erstere Prune pure vorwiegend in Plasma und Kern, deren zweite es aber besonders auffallend in der Vakuole bindet. Die von SCHAEDE (1923) erwähnte Ausnahme, daß die untere Zwiebelepidermis den Farbstoff wie die obere nur im Plasma und Kern erkennen ließ, konnte gelegentlich bestätigt gefunden werden. Obwohl keiner der genannten Autoren für den Fall normaler Speicherung in der Unterepidermis eine gleichzeitige Plasmafärbung bestreitet, soll doch betont werden, daß auch dort dem Zytoplasma wie auch dem Kern die Fähigkeit Prune pure zu binden nicht abgeht. Werden genügend verdünnte Lösungen benützt ($3{,}5 : 10^5$, noch schwächere sind aus weiter unten zu besprechenden Gründen ungeeignet), so läßt sich zeigen, daß in der unteren Epidermis Plasma und Kern ähnlich intensiv gefärbt sind wie die Vakuole. Meist geht sogar eine sehr

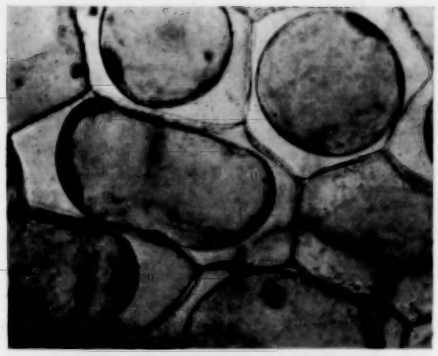


Abb. 1. *Allium cepa*, untere Epidermis der Zwiebelschuppe. Vitalfärbung mit Prune pure (3,5:100000). Plasmolyse in Rohrzucker. Vergr. etwa 165fach. Färbezeit 5½ Std. — Vakuole schwach blau, Plasma und Kern tief blau-violett gefärbt.

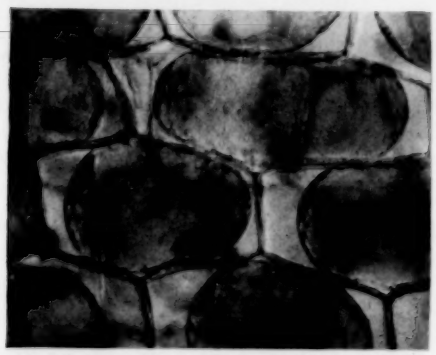


Abb. 2. Wie Abb. 1. Färbezeit 5½ Std. Farbton von Zellsaft und Plasma in ähnlicher Intensität.

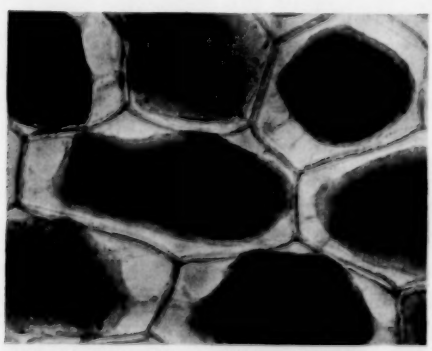


Abb. 3. Wie Abb. 1. Färbezeit 13 Std. Vakuole intensiv blau bis tief dunkelblau gefärbt, Kern und Zytoplasma farblos.

auffallende Plasmafärbung der des Zellsaftraumes voraus (Abbildung 1). Allmählich kommt es dann zum Ausgleich und beide Zellphasen zeigen den Farbstoff in ähnlicher Intensität (Abb. 2). Etwas weniger regelmäßig ist dann mit der Speicherung weiteren Farbstoffs in der Vakuole eine allmähliche Entfärbung des Plasmas verbunden (Abb. 3). Bei dieser Entfärbung können bereits schädigende Einflüsse der langen Färbezeit mitspielen.

Prune pure zeigt nach KÜSTER (1933) einen Farbumschlag von rot nach blau zwischen p_H 3,0 und 3,6 und von blau nach violett bei p_H 8. Nach DRAWERT (1938) nehmen sowohl lebende Pflanzenzellen, als auch organische Lösungsmittel als Modellsubstanzen, den Farbstoff nur aus Lösungen von p_H 3—9 auf. Aus Elektrophorese-Versuchen schließt DRAWERT (1938), der Farbstoff liege zwischen p_H 3,5 und 9 vorwiegend als undissoziiertes elektrisch neutrales Molekül vor. Daß ein Dissoziationsgleichgewicht besteht, welches zwischen den Umschlagpunkten den Nachweis ungeladener Farbstoffmoleküle erlaubt, scheint nicht bezweifelbar. Der Umladungspunkt aber, unterhalb dessen Prune pure als Kation und oberhalb dessen es als Anion abdissoziiert, ist einer genaueren Messung wert, um so mehr als bereits KÖLBEL (1948) Bedenken gegen die Filtrierpapierelektrophorese äußert, da Quellungs-

zustand und elektrische Ladung der Zellulose selbst p_H-abhängig sind und die Steighöhe des Farbstoffs beeinflussen können.

Der Farbstoff (1:10000 + 2% Rohrzucker) wurde in abgestufter Phosphatpufferlösung [doppelte Konzentration der von STRUGGER (1949) angegebenen Werte] in den unteren Teil eines U-Rohres (nach MICHAELIS-RONA 1930, S. 126) gebracht und mit farbloser Pufferlösung überschichtet. Die stromzuführenden Kupferdrähte endeten in 10%iger $CuSO_4$-Lösung, welche mittels KCl-Agarhebern mit dem Inhalt des U-Rohres leitend verbunden wurde. Es wurde Netzspannung von 195—210 V Gleichstrom angelegt.

Im Bereich p_H 2,15—5,18 wandert der Farbstoff zur Kathode, zwischen p_H 5,7 und 8,05 wurde Bewegung zur Anode festgestellt, bei p_H 5,5 blieb er in Ruhe. Der Umladungspunkt des Prune pure liegt demnach zwischen p_H 5,18 und 5,7. Beachtenswert ist, daß es schon im schwach sauren Gebiet, über p_H 5,7, als Anion auftritt, wenn auch zunächst nur in geringen Mengen.

Wenn DRAWERT (1938) aus den oben wiedergegebenen Daten schließt, Prune pure werde im Plasma durch Lösung des Farbstoffes in den Zellipoiden nach dem NERNSTschen Prinzip der auswählenden Löslichkeit gespeichert, so kann dieser Vergleich des wasserdurchtränkten Protoplasmas mit organischen Modellsubstanzen nicht befriedigen. Voraussetzung der Speicherung ist, daß der betreffende Stoff zunächst permeiert. Wenn sich der Farbstoff in der lebenden Zelle nur nachweisen läßt, sofern das p_H der Außenlösung einer völligen Dissoziation entgegenwirkt, so besagt das unseres Erachtens nur, daß eben das elektrisch neutrale Molekül der Farbbase permeiert, während die Endosmose des Farbions gehemmt ist. Ein ganz entsprechendes Verhalten, nämlich Permeation lediglich der durch Hydrolyse abgespaltenen freien Base, konnte RUHLAND (1914, S. 403ff.) für einige Alkaloide zeigen. Bereits SCHÖNFELDER (1930, S. 474) erklärte die gehemmte Permeation von Ionen im Sinne der Ultrafiltertheorie mit der großen Wasserhülle in hydratisiertem Zustand, als Folge der elektrischen Ladung. Neuerdings hat BOGEN (1950, S. 84ff.) zunächst für Anelektrolyte überzeugend dargetan, daß ein hoher Verteilungskoeffizient in dem System organisches Lösungsmittel—Wasser (= hohe „Lipoidlöslichkeit") und hohe Permeationskonstante eines Stoffes parallel gehen, weil sie ihre gemeinsame Ursache in den zwischenmolekularen Kräften haben, und daß es nicht angeht, die eine dieser Eigenschaften als die Ursache der anderen zu bezeichnen. Eine Übertragung dieser Anschauung auf Elektrolyte ist nach BOGEN (1950, S. 86) wenigstens prinzipiell möglich. Dabei ist zu bedenken, daß die Hauptvalenzkräfte von Ionen vielmals größer sind als die stärksten Kohäsions- oder Nebenvalenzkräfte. Wenn demnach die von DRAWERT (1938) für die Bindung des Farbstoffes als maßgebend bezeichneten Bedingungen bereits über die Permeation entscheiden, so muß die zur Speicherung führende Reaktion als unbekannt gelten. Eine

Salzbindung könnte Prune pure vom Umladungspunkt aufwärts als Anion, darunter als Kation eingehen. Über p_H 5,7 könnte Prune pure im Plasma nur als Anion für heteropolare Bindung in Frage kommen. [Vgl. die gegensätzlichen Vorstellungen KÖLBELS (1947, besonders 1948, S. 447), wonach die Bindung basischer Farbstoffe im Plasma auf dessen negativer Ladung oberhalb seines isoelektrischen Punktes beruhen soll.] Im sauren Zellsaft könnte Prune pure mit freien Säuren (oder primären Salzen mehrbasischer Säuren) ein lösliches, nicht exosmierendes Salz bilden (vgl. auch DRAWERT 1940). Als Träger von Hydroxylgruppen könnte es von Säuren (z. B. Gallussäure, Depsiden usw.) als Ester oder glykosidisch an Zucker gebunden werden. Eine begründete Aussage über die faktisch zur Speicherung führende Reaktion erscheint zur Zeit nicht möglich.

Wenn KÜSTER (1933) und SCHÖNLEBER (1936) eine irgendwie geartete leichte „Schädigung" des Plasmas als notwendige Voraussetzung für die Speicherung von Prune pure ansehen, so kann dies nicht allgemein gelten, da auch völlig intakte Organe den Farbstoff aufnehmen.

Basische Farbstoffe, soweit sie die lebenden Teile der Zelle zu färben vermögen, und Prune pure besonders, sollen nach STRUGGER (1932, 1935) innerhalb des Kernes nur im Kerngerüst gespeichert werden, während die Karyolymphe farblos bleibt. Da beide Kernphasen in der gesunden Zelle der Zwiebelepidermis nicht zu unterscheiden sind, läßt STRUGGER (1932) vor und während des Färbens eine 0,17 mol. KNO_3-Lösung einwirken und erreicht damit eine „Entmischung" der Kernphasen. Es erscheint nicht statthaft, das so gewonnene Ergebnis auf den normalen Kern auszudehnen. Einer Verallgemeinerung steht auch die Beobachtung BÊLÂRS (1929) entgegen, wonach der basische Farbstoff Chrysoidin bei *Tradescantia*-Staminalhaaren diffuse Gelbfärbung des Zytoplasmas erzeugt, während Kern und Chromosomen farblos bleiben.

2. Speicherung von Akridinorange.

Akridinorange, das Chlorzinkdoppelsalz des 3-6-Tetramethyldiaminoacridins (Nr. 902 der Farbstofftabellen von SCHULTZ, 1931), wurde von BUKATSCH und HAITINGER (1940) und gleichzeitig und unabhängig von STRUGGER (1940) als „Fluorochrom" zur Vitalfärbung empfohlen. Es färbt lebendes Plasma homogen und wird im Kern elektiv im Karyotin oder Chromatin und den Nukleolen gespeichert (STRUGGER 1940, 1949). Die Bindung des Farbstoffes an die Chromatinstrukturen gewinnt besondere Evidenz durch STRUGGERS (1940b) Beobachtung vital fluorochromierter Chromosomen in Staminalhaaren von *Tradescantia virginica*. Dieser Versuch konnte von mir mehrfach reproduziert werden[1], am

[1] Ein Teil der Fluoreszenzversuche wurde, dank freundlichen Entgegenkommens des Herrn Prof. Dr. W. SCHUMACHER, im Botanischen Institut der Universität Bonn durchgeführt.

besten in der von STRUGGER (1940) angegebenen Art, nämlich kurze Färbezeit (10—15 min) in starker Farblösung (1:10000) von sehr schwacher Alkaleszenz (p_H 7,5, Phosphatpuffer) und Beobachtung in gepufferter 1%iger Traubenzuckerlösung. Er gelingt auch noch, allerdings nicht regelmäßig, mit ungepufferter schwach saurer Lösung oder mit gepufferter, aber weniger konzentrierter Farblösung (1:20000 und sogar 1:50000) bei entsprechend verlängerter Färbezeit. Dabei kommt es allerdings immer häufiger vor, daß sich die Chromosomen nicht mehr unterscheiden lassen. Dies ist nicht verwunderlich, da die Beobachtung sehr zarter Grünfluoreszenz durch heller aufleuchtende benachbarte Gewebe (Filamente, ältere Haarzellen) beeinträchtigt wird. Die wachsenden Spitzenzellen der Staminalhaare nehmen aus dem sehr starken Farbbad (1:10000) außerordentlich wenig Farbstoff auf. Jede längere Einstrahlung muß vermieden werden. Wird aber der Teilungsablauf im gewöhnlichen Licht beobachtet und die Fluoreszenz nur kurz während der Meta- oder Anaphase geprüft, so ist die Mehrzahl der Zellen noch in der Lage, die Teilung normal, mit Querwandbildung und Restitution der Ruhekerne durchzuführen. Nicht selten ($^1/_3$ der beobachteten Fälle) wird die Teilung allerdings nicht fortgesetzt, und es kommt zur Kernrestitution aus der Meta- oder Anaphase. Selbst dann kann noch stundenlang Plasmaströmung anhalten. Der Ablauf der Zellteilung erscheint als ein außerordentlich empfindliches Vitalitätskriterium. Als Ursache für die gestoppte oder rückläufige Zellteilung kommen mehrere Faktoren in Frage: photodynamischer Effekt, Giftwirkung des Farbstoffes, ungünstiges wäßriges Medium, O_2-Mangel usw. Der intensiveren Fluoreszenz nach müssen die Chromosomen mehr Farbstoff gebunden haben als das Plasma. Trotzdem kann die Zelle noch in der Lage sein, die Teilung fortzuführen.

Nukleinsäure, bzw. Nukleoproteide, scheinen von entscheidender Bedeutung für die Speicherung von Akridinorange, wie die Versuche von GÖSSNER (1949) sowie ZEIGER und Mitarbeiter (1951) an fixierten tierischen Zellen dartun. Die Autoren verglichen die Färbung von Zellen, deren Nukleinsäuren zuvor mittels Nukleasen entfernt wurden, mit der nicht vorbehandelter Zellen. (Vgl. auch die entsprechenden Ergebnisse der Versuche von MASSART und Mitarbeitern 1947b, BAUCH 1949 und STICH 1951 mit dem chemisch nahestehenden Trypaflavin.) Für eine wesentliche Beteiligung von Nukleinsäure an der Bindung von Akridinorange in der lebenden Zelle spricht schon dessen oben beschriebene bevorzugte Bindung an die nukleinsäurehaltigen Strukturen.

Die Art der Bindung von Akridinorange will STRUGGER (1940b) in einer „elektrostatischen Adsorption" sehen. Der Begriff ist uns aus der physikalischen Chemie nicht bekannt. Aus KÖLBELS (1947) quantitativer Fortführung der STRUGGERschen Versuche scheint hervorzugehen, daß

die Autoren dabei nicht an einen durch die Adsorptionsisotherme definierten Vorgang denken, sondern eine Hauptvalenzbindung zwischen negativen Gruppen des Zellplasmas und dem positiv geladenen Farbkation annehmen, was üblicherweise Salzbildung oder Ionenbindung genannt wird.

Stellt man sich das Protoplasma im Sinne FREY-WYSSLINGS (1938) als ein durch verschiedenste Bindungsarten und Bestandteile vielfach vernetztes Gerüst vor, so sind in lebendem Zustand nur wenige reaktionsfähige Gruppen frei. [Sehr energisch vertritt DRAWERT (1951, S. 142) die Vorstellung eines nahezu elektrisch neutralen Zustands des lebenden Zytoplasmas.] Mit freien Gruppen saurer Art kann der Farbstoff reagieren. Nach dem Massenwirkungsgesetz muß ein Farbstoffüberschuß die Auflösung von Haftpunkten, vernetzenden und abschirmenden Bindungen begünstigen, deren saurer Partner seinerseits mit Akridinorange reagiert. Die Färbung gilt, etwas willkürlich, solange als vital, als trotz dieses Umbaus am Plasmagefüge einige dem lebenden Plasma zukommende Erscheinungen, wie Plasmaströmung, Zellteilung, Plasmolyse, beobachtet werden können. Handelt es sich um vital gefärbte Chromosomen, so kommen als bindendes Agens in erster Linie saure Gruppen der Nukleinsäure in Frage. An deren Abbau selbst ist dabei nicht zu denken, denn IRVIN und Mitarbeiter (1949) zeigten, wenigstens für das Akridinderivat 2-methoxy-6-chloro-9-(1-methyl-8-diäthylamino-octylamino)-acridin, daß die Fähigkeit der Nukleinsäure dieses zu binden mit fortschreitender Hydrolyse abnimmt. Daß der Farbstoff gerade Wirkstoffe aus ihrer Bindung verdrängen soll, wie LETTRÉ (1948) beim Trypaflavin annimmt, erscheint völlig hypothetisch. Die Regenerationsversuche STICHS (1951) an kernlosen Stücken von *Acetabularia mediterranea* zeigen im Gegenteil, daß der hemmende Einfluß dieses Akridinfarbstoffes auf die Plasmavermehrung nicht am Zellkern einsetzt.

C. Wirkung auf die Mitose.

1. Methodik.

Als Material dienten Adventivwurzeln von *Allium cepa*. Die Zwiebeln wurden im Gewächshaus unter einem Dunkelsturz vorgetrieben. Bei fast allen Versuchen mit Prune pure und den ersten orientierenden mit Akridinorange wurden die Pflanzen in abgekochtem Leitungswasser gezogen und die Farbstoffe in Aqua dest. geboten. Nachdem sich gezeigt hatte, daß die Empfindlichkeit der Organe bei längerem Aufenthalt in destilliertem Wasser erheblich zunimmt (vgl. auch BRAUER 1949/50), wurde als Kulturflüssigkeit nur noch Nährlösung nach v. D. CRONE verwendet. In einigen Fällen wurden auch die Versuchsreagentien in zuvor filtrierter Nährlösung dargeboten. Die Versuche fanden im Dunkelraum statt, bei einigermaßen konstanter Temperatur. Die Pflanzen waren jeweils 24 Std zuvor zur Adaptation dorthin gebracht worden. Einwirkungsdauer und Fixierzeiten wurden beim Prune pure weitgehend variiert, für Akridinorange wurde 2stündige Exposition gewählt und die Pflanzen anschließend in ihre alte Kulturlösung zurückgebracht.

Fixiert wurde hier im allgemeinen 5 Std, zur Orientierung auch 24 und 70 Std nach Versuchsbeginn. Als Fixiergemisch diente die schwächere FLEMMINGsche Lösung. Zu orientierender Untersuchung wurde nach 1stündiger Fixierung Feulgenfärbung als Quetschmethode angewandt, wie bei HOHL (1949) angegeben. Als Einschlußmittel diente alkoholische Terpentinlösung nach GEITLER (1942). Zum Auszählen wurden nur Mikrotomschnitte herangezogen, ebenfalls nach FEULGEN (ROMEIS 9.—10. Aufl.) gefärbt, zu einem kleinen Teil auch mit Gentianaviolett in der von OEHLKERS (1940) angegebenen Weise. Als destilliertes Wasser diente anfangs aus Jenaer Hartglas umdestilliertes Kondenswasser einer Heizungsanlage, später aus Quarzapparatur destilliertes Wasser. Messung von p_H-Werten erfolgte mit dem Lautenschläger-Ionometer, im allgemeinen nach der Chinhydronmethode, soweit erforderlich mit der Wasserstoffelektrode. Reagentien: Prune pure von Fa. Sandoz, Basel, Akridinorange, standardisierter Farbstoff der Firma Hollborn, Leipzig, Nukleinsäure und Uracil von der Fa. Hoffmann-La Roche, Grenzach i. Baden.

2. Wirkung des Prune pure.

Prune pure wurde in Lösungen $1:10^4$, $1:10^5$ und $1:10^6$ angewendet. Ein Teil der Pflanzen wurde nach 1,3 und 5 Std in destilliertes Wasser übertragen. In späteren Versuchen wurden Lösungen 1:10000, 1:15000, 1:20000 und 1:50000 benützt.

Die stärkste Konzentration wirkt sehr schnell schädigend. Von Anfang in der Farblösung verbliebene und erst nach 3 oder 5 Std daraus entfernte Wurzeln verloren schon nach 5—8 Std ihre Turgeszenz, was bei Pflanzen mit nur einstündiger Exposition erst nach 24 Std zu beobachten war. Der Farbstoff war bei allen Wurzeln außer im Dauergewebe besonders intensiv im Meristem gespeichert worden. Eine Schädigung macht sich äußerlich zuerst an der etwas eingeschnürten und schlaff erscheinenden Streckungszone bemerkbar. Die Konzentration 1:100000 dagegen wird besser ertragen. Dauernd darin exponierte Wurzeln wurden 2 Tage lebend beobachtet, die Erholungsreihen bis zu 7 Tage, während welcher sie, je nach Expositionsdauer, $\pm$ wuchsen. Danach war die Meristemfärbung weit weniger intensiv als zu Beginn. Wenn die dauernd exponierten Wurzeln innerhalb von 48 Std nicht merklich stärker geschädigt waren als die Erholungsreihen, so dürfte dies daher rühren, daß der Farbstoff in verdünnter Lösung sehr instabil ist und unter Abscheidung von Nadeln der Farbbase allmählich ausflockt (DRAWERT 1938).

Wesentliche zytologische Veränderungen fehlen bei den mit Prune pure $1:10^5$ behandelten Pflanzen so gut wie vollständig. Dagegen zeigen die in einer Lösung $1:10^4$ gehaltenen Wurzeln zum Teil bereits nach 5 Std, später alle, im mikroskopischen Bild fast nur noch ruhende und zum großen Teil deformierte Kerne, als Zeichen schwerer Schädigung. In den ersten Stunden der Behandlung fixierte Gewebe lassen Verklebungen des Kernmaterials und Telophasen mit Chromatinbrücken erkennen. Ein etwas reichhaltigeres Bild von Mitosestörungen bieten

die Pflanzen, welche bereits nach nur einstündiger Behandlung mit derselben Prune pure-Konzentration zur Erholung in Wasser übertragen worden waren. Kerndegeneration tritt hier vereinzelt nach 12 Std, regelmäßiger nach 24 Std auf. In den ersten Stunden nach der Behandlung fixierte Objekte zeigen Chromatinverklebungen. Besonders auffällig sind Chromatinbrücken zwischen Tochterkernen der Ana- und Telophase (Abb. 4, 5). Gelegentlich bleibt ein verklebtes Chromatid in der Äquatorialebene bewegungsunfähig liegen (Abb. 4). Die Chromatinbrücken sind meist dick, ungefähr von der Breite eines Chromosoms. Bilden nur ein oder zwei Chromosomen eine derartige Brücke, so kann diese während der Bewegungsphase durchgerissen werden. Multiple

Abb. 4. *Allium cepa*, Wurzelmeristem. Aufzucht in Wasser. Prune pure 10^{-4} 1 Std, Aqua dest. 4 Std. Späte Anaphase mit Chromatinbrücke und liegengebliebenem Chromosom. Vergr. etwa 1660fach. Färbung: Nuklealreaktion.

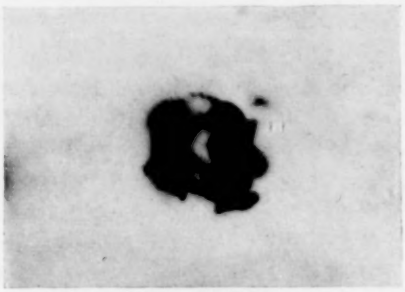


Abb. 5. Wie Abb. 4. Prune pure 10^{-4} 1 Std. Aqua dest. 11 Std. Telophase, Bewegung durch Verklebung behindert. Vergr. etwa 1660fach. Färbung: Gentianaviolett.

Brücken behindern die Bewegung (Abb. 5). Mehrfach verbundene Kerne, deren Trennung ausblieb, schreiten zur Chromatinauflockerung. Eine derartige vollständig durchgeführte Kernrestitution konnte nicht beobachtet werden, was damit zusammenhängen dürfte, daß die behandelten Wurzeln allmählich absterben. Nach längerer Einwirkung zeigen sich auch Veränderungen in der Metaphase. Die Chromosomen erscheinen verkürzt und relativ dick. Sie sind zum Teil zu Klumpen zusammengeballt oder auch regellos zerstreut. Die Zahl der Teilungsstadien sinkt ständig ab. Vollständige Teilungsruhe tritt erst mit beginnender Kerndegeneration ein.

Als pathologische Zellteilungserscheinungen sind also Chromosomenverkürzung, Chromatinverklebung und Verklumpung (Pyknose) zu beobachten. Alle diese Bilder aber treten in Organen auf, welche wenige Stunden später absterben und müssen daher als präletal bezeichnet werden.

Die Bedeutung der Anzuchtbedingungen erhellt daraus, daß auf Pflanzen, welche vorher 7 Tage in Aqua dest. gehalten worden waren, Prune pure $1:10^6$ schon ähnlich stark wirkte, wie sonst erst die Konzentration $1:10^4$.

Da die Spanne zwischen der letalen Konzentration 1:10000 und der für die Auslösung von Verklebungen nahezu unwirksamen von 1:100000 eine volle Zehnerpotenz beträgt, wurde versucht, dazwischen eine nichtletale und doch zytologisch wirksame Konzentration zu finden. Leider mußte dazu anderes Zwiebelmaterial benutzt werden. Die Einwirkungszeit betrug bei sonst gleichen Bedingungen 2 Std. Die Lösung 1:10000 wurde etwas besser ertragen als im früheren Versuch, insofern Degeneration erst nach 3 Tagen eintrat. Die Verdünnungen 1:15000 und 1:20000 führten bereits nicht mehr zum Absterben. Verklebungsbilder

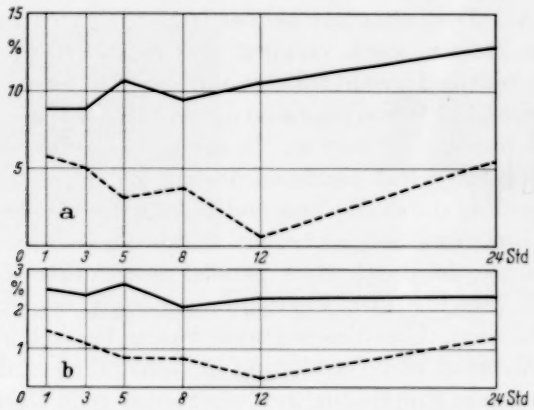


Abb. 6a u. b. Teilungsintensität in Prune pure 10^{-5}. a Teilungsstadien in Prozent der gezählten Zellen. b Meta- und Anaphasen in Prozent der gezählten Zellen. ------ Prune pure. —— Kontrolle in Aqua dest.

sind selten, außer bei der stärksten Konzentration (1:10000) treten sie vereinzelt auch noch bei der nicht mehr letalen Verdünnung 1:15000 auf.

Wie man sieht, liegt also die Konzentrationsschwelle für die Störung der Mitose durch Prune pure auffallend nahe bei der letalen Dosis.

Wenn bei den mit Prune pure 1:100000 behandelten Pflanzen auch keine schweren morphologischen Veränderungen festzustellen sind, so sinkt doch die Teilungsintensität erheblich ab. Um dies zu belegen, wurde aus den Einzelschnitten der Wurzeln eine Anzahl Gesichtsfelder aus der meristematischen Zone, dicht hinter der Wurzelhaube (aber ohne diese selbst) ausgezählt. In Abb. 6a sind die Teilungsstadien in Prozent der gezählten Zellen dargestellt, und zwar bei Pflanzen, welche einer Prune pure-Lösung von 10^{-5} dauernd ausgesetzt blieben. Ein plötzliches und tiefes Absinken der Teilungsintensität, aber auch ein beginnender Wiederanstieg, sind zu verfolgen. Eine gewisse Unsicherheit für Zählungen bedeuten die Stadien, welche von der Telophase zum Ruhekern und von diesem wieder zur Prophase überleiten. Obwohl von jeder Wurzel mindestens 1000 Zellen gezählt wurden, schien es nicht ganz

sicher, daß sich diese Fehler gegenseitig aufheben. Die Werte für Meta- und Anaphasen, also Stadien, welche sich einwandfrei erkennen lassen, sind in Abb. 6b dargestellt. Der Verlauf der Kurven stimmt grundsätzlich überein. Dasselbe bestätigen auch die aus derselben Farblösung entnommenen Erholungsreihen, wenn hier das Minimum auch nicht ganz so tief liegt. Ein zahlenmäßiger Vergleich nach der Häufigkeit der einzelnen Stadien gab keinen Hinweis darauf, daß etwa eine bestimmte Phase im Ablauf der Mitose wesentlich stärker gehemmt würde als die übrigen. An Hand von Querschnitten durch 12 Std behandelte Wurzeln wurde geprüft, ob Form und Größe der Metaphasenchromosomen von der Norm abweicht. Dies trifft nur bei der letalen Konzentration zu. Hier erscheinen sie kleiner, stark verkürzt und relativ dick.

Eindeutig morphologisch faßbare und regelmäßige Veränderungen am Chromatin bringt Prune pure also nur in Konzentrationen von hoher allgemeiner Schädlichkeit hervor. In größerer Verdünnung vermag es nur die Teilungsintensität herabzudrücken.

Eine Täuschung durch die Empfindlichkeit der Wurzeln gegen Aqua dest., wie sie BRAUER (1949/50) betont, und welche auch ich gelegentlich feststellen konnte, ist durch stets parallel ausgeführte Kontrollen und den Vergleich verschiedener Verdünnungen innerhalb einer Versuchsreihe ausgeschlossen. Überdies zeigte ein kurzer Versuch mit Prune pure $1:10^4$, nach Anzucht und Darbietung in Nährlösung v. d. Crone, zwar eine etwas geringere Empfindlichkeit, aber sonst volle Übereinstimmung mit den früheren Ergebnissen.

3. Wirkung des Akridinorange.

Akridinorange wurde in den Konzentrationen 1:10000, 1:50000, 1:100000, 4,4:1 Million und 1:1 Million geboten. Die Pflanzen waren in Leitungswasser gezogen worden, der Farbstoff in Aqua dest. gelöst. Nach Anzucht in Nährlösung v. d. Crone wurden die Konzentrationen 1:100000, 1:20000 und 1:10000 geprüft. Abgesehen vom letzterwähnten Fall diente hierbei zuvor filtrierte Nährlösung als Lösungsmittel für den Farbstoff. Die Nährlösung hat den Vorteil, daß sie gegen p_H-Änderung durch die Hydrolyse basischer Farbstoffe weitgehend abgepuffert ist. Nach zweistündiger Einwirkung wurden die Pflanzen abgespült und in die alte Kulturlösung zurückgebracht. Fixiert wurde regelmäßig nach 5 Std, zur Erfassung eines Späteffektes auch nach 70 Std. Zu einigen Akridinorange-Versuchen wurden vergleichsweise auch solche mit Trypaflavin parallel ausgeführt.

Bereits makroskopisch fällt die geringe Giftigkeit des Akridinorange auf. Bei Wasserkultur bringt Trypaflavin bis zur Verdünnung 1:100000 regelmäßig, zum Teil auch noch mit 1:338000, die Wurzeln zum Absterben. Akridinorange erzwingt zwar in der Verdünnung 1:10000

einen Wachstumsstop, wirkt aber nicht tödlich. Der zytologische Effekt des Akridinorange läßt mit der Verdünnung nach, er konnte aber in allen genannten Konzentrationen nachgewiesen werden, in den beiden schwächsten allerdings nur noch sehr vereinzelt. Die gleiche Farbstoffmenge wirkt bei Anzucht in Nährlösung wesentlich geringer als bei solcher in Wasser. So verliert Trypaflavin 1:100000 durch Anzucht in Nährlösung den letalen Charakter. Akridinorange 1:100000 gibt in diesem Fall nur noch sehr selten den zytologischen Effekt, während die gleiche Konzentration bei Anzucht in Wasser als regelmäßig wirksam gelten kann. Von den Reagentien der Nährlösung bildet nur das NO_3^-

Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 7. *Allium cepa*, Wurzelmeristem. Aufzucht in Nährlösung. Akridinorange $5 \cdot 10^{-5}$ 2 Std, Nährlösung 3 Std. Anaphase mit Endopyknose. Vergr. etwa 1500fach. Färbung: Nuklealreaktion.

Abb. 8. Wie Abb. 7. Späte Anaphase mit Chromatinbrücken und liegengebliebenem Chromosom.

eine schwerlösliche Verbindung mit den Akridinfarbstoffen. Die verminderte Schädlichkeit rührt sicherlich davon her, daß ein Teil des Farbstoffes ausfällt, doch dürfte wohl auch der gute Gesundheitszustand der Pflanzen nach Anzucht in Nährlösung eine Rolle gespielt haben, den sowohl neutrale Reaktion als auch Ionengleichgewicht bewirkt haben dürften.

Nach Akridinorange-Behandlung ist das zytologische Bild durch Chromatinverklebungen bestimmt. Unvollständige Chromatidentrennung (Abb. 7), terminale oder seitliche Chromosomenverklebung führen gleicherweise zu Chromatinbrücken (Abb. 8). Durch Verklebung können ganze Chromatiden in der Äquatorialebene festgehalten werden (Abb. 8). Im einzelnen ist oft nicht zu entscheiden, wieweit Chromosomenteile in abnormaler Weise den Tochterkernen zugeordnet werden. Multiple Brücken behindern die Anaphasenbewegung, wodurch polyploide Kerne resultieren (Abb. 12 und 13), oft von seltsam eingeschnürter Form. Häufig ist aber die Bewegung nur wenig gehemmt, und das verklebte Kernmaterial wird zu mehr oder weniger dünnen Fäden ausgezogen (Abb. 9 bis 11). Solche dünnen Chromatinfäden verbinden dann in Ein- oder Mehrzahl junge Schwesterkerne (Abb. 10). Weniger häufig treten breite Chromatinbänder zwischen Tochterkernen auf (Abb. 12). Manchmal läßt

sich erkennen, daß solche Bänder aus mehreren feinen Fäden zusammengesetzt sind (Abb. 11). Breite Brücken sind in der Mitte meist wesentlich schmäler als an den Ansatzstellen, eine Folge des Zuges während der

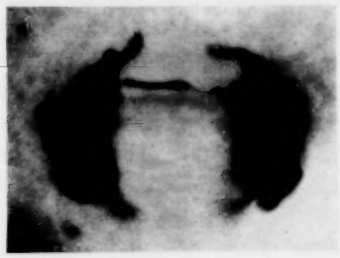


Abb. 9.

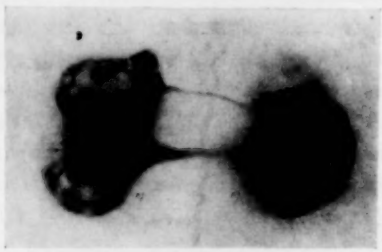


Abb. 10.

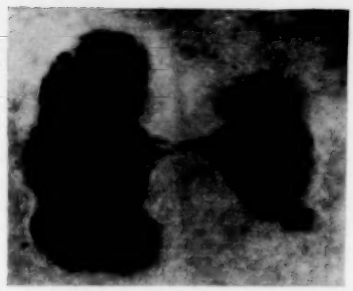


Abb. 11.

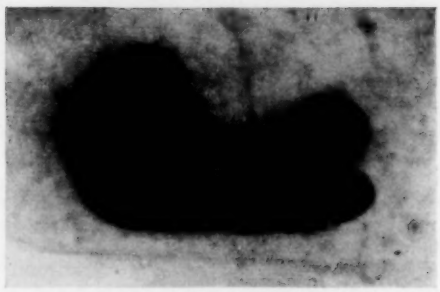


Abb. 12.

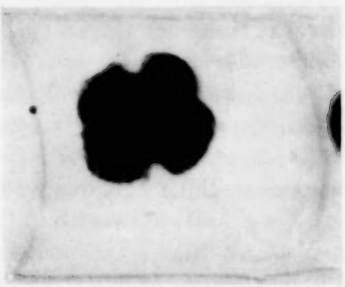


Abb. 13.

Abb. 9. Wie Abb. 7. Aufzucht in Wasser. Akridinorange 10^{-4} 2 Std, Aqua dest. 3 Std. Telophase mit Chromatinbrücke. Vergr. etwa 1660fach. Färbung: Nuklealreaktion.

Abb. 10. Wie Abb. 9. Ruhekerne mit dünnen Chromatinbrücken.

Abb. 11. Wie Abb. 9. Ruhekerne mit Chromatinbrücke und ungleicher Chromatinverteilung, trotzdem Wandbildung.

Abb. 12. Wie Abb. 9. Ruhekern mit ungleicher Chromatinverteilung und breiter Brücke, trotzdem Wandbildung.

Abb. 13. Wie Abb. 7. Unterdrückte Kernteilung.

Bewegungsphase (Abb. 10 und 11). Die Chromatinbrücken sind feulgenpositiv und stellen ihrem morphologischen Wert nach Teile von Chromosomen dar. Besonders instruktiv erscheinen die leider sehr seltenen

Bilder, in denen ein Teil der Brücke die normale Dicke eines Chromosoms aufweist, während das anschließende Stück zu einem dünnen Faden ausgezogen ist (Abb. 9). Es liegt nahe, zu vermuten, daß in den dünnen Teilen die Spiralisierung wenigstens teilweise aufgehoben ist. Das unterschiedliche Verhalten einzelner Chromosomenabschnitte weist auf Viskositätsunterschiede hin, sei es, daß die Chromosomen primär Abschnitte verschiedener Viskosität enthalten, oder einzelne Bezirke auf die Vergiftung unterschiedlich reagieren. Ob eine Beziehung zur Längsdifferenzierung in Euchromatin und Heterochromatin besteht, läßt sich nicht sagen, denn die Chromosomen von *Allium cepa* sind wegen ihrer Ähnlichkeit nicht zu identifizieren. Zellwandbildung erfolgt trotz ± dicker Brücken regelmäßig (Abb. 10 und 11). Ob dabei Lücken um das Kernmaterial ausgespart bleiben, entzieht sich der Beobachtung. Sehr breite Brücken behindern die Zellwandbildung. Sie verläuft dann etwas unregelmäßig, meist nur von einer Seite, und kommt vor dem eingeschnürten Kernmaterial zum Stehen (Abb. 12). Auffallend ist, daß auch erheblich deformierten Kernen, mit äußerst ungleichmäßiger Chromatinverteilung, die normale Umwandlung zum Ruhekern, wie Chromatinauflockerung und Nukleolenbildung gelingt (Abb. 10—13). Auch schwerwiegende Veränderungen am Chromatinbestand der Kerne scheinen demnach diese Restitution nicht zu behindern.

In Wurzeln, welche nach dreitägiger Erholung in Aqua dest. fixiert worden waren, treten neben den bisher beschriebenen Bildern Anaphasen mit in der Äquatorialebene liegengebliebenen Chromosomenstücken, aus Telophasenkernen herausragende Chromatinstücke, welche als gerissene Brücken gedeutet werden müssen, und nicht selten Karyomere auf (vgl. Bauch 1947). Es liegt nahe, diese Formen von kommissurlosen Chromosomenstücken herzuleiten, welche durch Verklebung mitgeschleppt wurden und liegenbleiben mußten, sobald die Verklebung gelöst wurde. Auch die sehr unterschiedliche Größe der bis zu drei in einer Zelle auftretenden Kleinkerne deutet auf eine Restitution aus abgestoßenen Chromosomenstücken hin. Allerdings muß betont werden, daß Kleinkerne auch ohne Behandlung mit Akridinabkömmlingen entstehen können, denn im Laufe anderer Untersuchungen traten in Kontrollen, auch solchen, welche demselben Zwiebelmaterial entstammten und in gleicher Weise behandelt worden waren (Anzucht in Wasser), zwar vereinzelt, aber doch eindeutig Karyomere auf. Bei diesen Pflanzen zeigt der Kern nicht selten eine kleine Ausstülpung, und zwar auf der der Teilungsebene abgekehrten Seite (vgl. hierzu die Abbildung bei Heitz 1932). Da oft bereits in der Anaphase ein oder mehrere Chromosomen, der Bewegung etwas vorauseilend, mit einem Schenkel aus der Figur herausragen und dieses Bild auch während der folgenden Stadien erhalten bleibt, so dürfte die erwähnte Ausstülpung am Ruhekern auf jene

Chromosomenteile zurückzuführen sein. Solche Kernfortsätze sind manchmal an der Ansatzstelle stark eingeschnürt. Sehr vereinzelt lassen sich Schwesterkerne finden, deren einer einen solchen Fortsatz mit dünner Chromatinverbindung zum Kern besitzt, während der andere in symmetrischer Lage dazu einen Kleinkern zeigt. Karyomere können also auch bei Kultur in destilliertem Wasser auftreten. Sie entstehen hier nicht aus liegengebliebenen Chromosomen, sondern durch Abschnürung von Kernmaterial. Nach Akridinorangebehandlung treten sie viel häufiger auf, ihrer Entstehung aber können verschiedene Vorgänge zugrunde liegen.

Hinsichtlich eines Einflusses auf die Teilungsintensität wurden lediglich Akridinorangelösungen von 1:10000 und 1:100000 verglichen. Die Pflanzen waren, nach Anzucht in Nährlösung, 2 Std dem Farbstoff ausgesetzt und nach 3 weiteren Stunden fixiert worden. Von den Einzelschnitten einer Wurzel wurde in möglichst gleichmäßiger Verteilung etwa jeder dritte herausgegriffen und je 2 Zählquadrate ausgezählt, eines aus der Mitte an der Spitze der meristematischen Zone, das zweite diagonal anschließend nach außen. So wurden aus jeder Wurzel je nach Dicke 1700—3400 Zellen erfaßt (meist um 2400 Zellen). Die Teilungsstadien betrugen bei der stärkeren Konzentration 2,48%, bei der schwächeren 4,98% der gezählten Zellen. Die Streuung ist beträchtlich, besonders bei der stärkeren Lösung. Die Werte sind statistisch gesichert (JUST 1935).

Das Störungsbild nach Akridinorange-Behandlung entspricht also völlig dem durch Trypaflavin, wie es von BAUCH (1947a) für *Allium cepa* und ähnlich von HOHL (1949) für *Vicia faba* beschrieben wurde und sich auch in eigenen Versuchen zeigte. Akridinorange ist demnach den Chromosomengiften im Sinne BAUCHS (1947b) zuzuordnen: Die Wirkung setzt an den Chromosomen oder wenigstens an ihrer Oberfläche ein, und das Kernmaterial selbst wird in seiner Menge, Zuordnung und Position verändert. Diese Abwandlungen sind zweifellos irreversibel, und was BAUCH (1947a) vom Trypaflavin aussagt, kann in diesem Sinn ohne weiteres auf Akridinorange übertragen werden. Nicht angängig aber wäre es, die zur Chromatinverklebung selbst führenden Vorgänge als irreversibel zu bezeichnen. Hier ist die Speicherung des Akridinorange im Gewebe zu berücksichtigen. Es tritt zwar im Erholungsversuch etwas Farbstoff aus dem Gewebe in die Kulturflüssigkeit über und weitere Verdünnung tritt durch Neuzuwachs ein, aber auch nach dreitägiger Erholung sind die Wurzeln noch so deutlich gefärbt, daß bei der Beurteilung von Späteffekten diese gespeicherte Farbstoffmenge nicht vernachlässigt werden darf.

Wenn LETTRÉ (1950) dem Akridinorange nicht die Eigenschaft als Mitosegift zuerkennt, so dürfte dafür zum Teil maßgeblich sein, daß

eine solche Wirkung eine etwa 10fach höhere Konzentration erfordert als bei Trypaflavin; andererseits könnte die relativ geringe Wachstumshemmung bei einer vorwiegend auf Messung des Zuwachses beruhenden Methode das abweichende Ergebnis erklären. Erst nach Prüfung dieser methodischen Fragen wäre daran zu denken, daß tierische Zellen anders als pflanzliche reagieren könnten.

Wenn D'AMATO (1950a, b) die Größe des wirksamen Konzentrationsbereichs, als Folge geringer Giftigkeit, und die daraus resultierende Eignung des Akridinorange zur experimentellen Mutationsauslösung betont, so kann dies nur bestätigt und unterstrichen werden.

4. Kombination von Akridinorange und Nukleinsäure.

Da sich Hefenukleinsäure in kaltem Wasser nur langsam und unvollständig löst (FEULGEN 1923), blieb in den ersten Versuchen ein ungelöster Rest. Später wurde dem durch kurzes Erwärmen im Wasserbad auf 45° abgeholfen und die Lösung vor Versuchsbeginn wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Läßt man nun eine solche Lösung auf in Wasser aufgezogenes Wurzelmaterial wirken, so findet man, daß die Nukleinsäure allein Verklebungen auslöst, und zwar in der Verdünnung $1:10^4$ regelmäßig, bei $1:10^5$ noch gelegentlich. Das p_H dieser Lösungen ist auf 4,0 bzw. 4,7 ($1:10^5$) erniedrigt. Als Ursache dieser Mitosestörungen kann der Säuregrad der Lösungen gelten, denn dieselben Nukleinsäure-Konzentrationen sind unwirksam, sofern sie in Nährlösung v. d. Crone gelöst dargeboten werden. In diesem Fall bleibt $p_H > 6{,}5$, auch bei der stärkeren Nukleinsäurelösung (10^{-4}); erst die Konzentration 10^{-3} bringt es auf $\sim 3{,}7$.

Im qualitativen Versuch konnte für Trypaflavin 1:500000 + Nukleinsäure 1:1000 sowie für Akridinorange 1:20000 + Nukleinsäure 1:10000 eine Kombination gefunden werden, bei der ein Effekt im wesentlichen ausbleibt, während die Farbstoffe allein erhebliche Wirkung zeigen. In der stärkeren Nukleinsäurelösung (10^{-3}) treten zwar nur sehr selten, aber doch regelmäßig, ebenfalls Verklebungen auf.

Dem Vergleich von Akridinorange und Nukleinsäure, getrennt und in Kombination, diente eine besondere Versuchsreihe. Anzucht und Darbietung der Reagentien erfolgten in Nährlösung v. d. Crone, Einwirkungszeit, wie üblich, 2 Std, Fixierung nach weiteren 3 Std. Zur Vermeidung von Zufälligkeiten erschien es notwendig, von jeder zu zählenden Wurzel alle Regionen des Teilungsgewebes in gleicher Weise zu erfassen. Es wurden deshalb nur solche Präparate verwendet, in denen die ganze Wurzelspitze in lückenlosen Schnittserien erhalten blieb. Die Teilungszone sämtlicher Einzelschnitte wurde ausgezählt. Als Teilungsstadien wurden gezählt die Anaphase mit Ausnahme ihres

frühesten Stadiums, in welchem die Lage der Chromosomen eine Entscheidung, ob verklebt oder nicht, oft sehr erschwert, und die Telophase. Zu letzterer wurden auch noch die jungen Ruhekerne gezählt, solange ihre Zusammengehörigkeit aus der Teilung eindeutig zu erkennen war und noch keine großen Nukleolen auftraten. Als Störungen wurden sämtliche Chromatinverklebungen dieser Stadien gezählt, soweit sie eindeutig, etwa durch Brückenbildung, als solche anzusprechen waren. Chromosomenbrüche wurden vernachlässigt, denn bei der absichtlich so kurz gewählten Behandlungszeit sind solche nach den Erfahrungen an Quetschpräparaten äußerst selten. In Schnittpräparaten treten sie auch in unbehandelten Kontrollen auf und dürften von der Stauchung beim Schneiden mit dem Mikrotom herrühren. Gezählt wurden von jeder Behandlungsart 4—7 Wurzeln mit zusammen 1800—2800 Teilungsstadien je Versuch. Tabelle 1 gibt die Störungen in Prozent der gezählten Stadien wieder.

Tabelle 1.

	Behandlung	Störungen in %
a	Acridinorange 1:20000	17,8
b	Acridinorange 1:20000 + Nucleinsäure 1:10000	0,4
c	Nucleinsäure 1:10000	0,07
d	Nucleinsäure 1:1000	3,6
e	Kontrolle	0,02

Statistisch gesichert ist a gegen b—e und d gegen e (JUST 1935). Die sehr ausgeprägte Wirkung des Akridinorange steht der zu vernachlässigenden der Nukleinsäure 1:10000 und der ähnlich geringen in der Kombination beider gegenüber. Eine zwar zahlenmäßig kleine aber doch feststellbare Wirkung muß der Nukleinsäure 1:1000 zuerkannt werden. Bei diesen Kombinationsversuchen (Farbstoff + Nukleinsäure) fand sich die schon von HOHL (1949) beobachtete weit schwächere Anfärbung der Wurzeln, im Vergleich zur reinen Farblösung, bestätigt. Weiter zeigte sich beim Zusammenbringen von Farbstoff und Nukleinsäure zunächst eine kolloidale Trübung; später fällt dann ein intensiv gefärbter Körper aus. Die überstehende Lösung wird entsprechend heller. Dies wurde mit dem Lange-Kolorimeter gemessen[1].

In den Strahlengang wurde ein Farbfilter „dunkelblau BG 5" eingeschaltet und die Absorption nach der Ausschlagmethode (LANGE 1941) in Prozent der totalen Absorption gemessen. Die Einstellung des Geräts wurde vor und nach jeder Messung kontrolliert und diese selbst sofort 3—5mal wiederholt. Als Lösungs-

[1] Es konnte hierzu das Gerät der technologischen Abteilung des chemischen Laboratoriums Erlangen benutzt werden, wofür Herrn Prof. Dr. K. ANDRESS Dank gebührt.

mittel diente, wie im Versuch, filtrierte Nährlösung; die Vergleichslösungen entsprachen genau den eigentlichen Meßlösungen, natürlich abgesehen vom Farbstoff. So wurden die reinen Farblösungen mit Nährlösung, die kombinierten Lösungen (Farbstoff + Nukleinsäure) mit entsprechend konzentrierten Nukleinsäurelösungen verglichen. Nach Zusatz der Nukleinsäure war 1 Std lang öfter umgeschüttelt, dann die Lösung zum Absetzen in hohe Standgefäße gebracht und nach 12 Std vom Niederschlag dekantiert worden.

Von den Farblösungen ließ sich durch stufenweise Verdünnung eine Eichkurve gewinnen und damit die mit Nukleinsäure versetzte Farblösung vergleichen. Die erhebliche Verminderung der Farbintensität veranschaulicht Abb. 14 für Akridinorange und Abb. 15 für Trypaflavin.

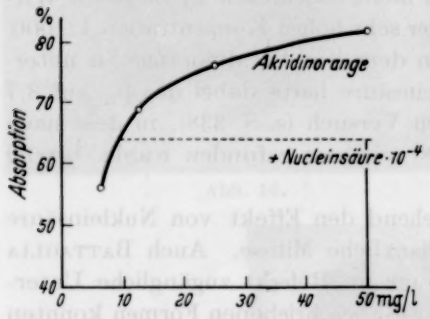


Abb. 14. Kolorimetrische Messung von Akridinorange, im Vergleich zu Akridinorange plus Nukleinsäure. Abszisse: Konzentration des Akridinorange in Milligramm je Liter. Ordinate: Absorption in Prozent der totalen Absorption.

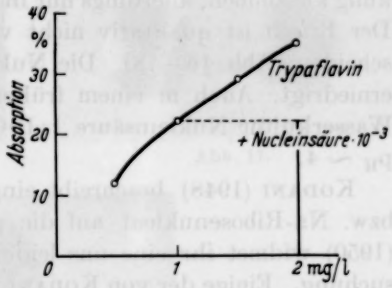


Abb. 15. Kolorimetrische Messung von Trypaflavin, im Vergleich zu Trypaflavin plus Nukleinsäure. Abszisse: Konzentration des Trypaflavin in Milligramm je Liter. Ordinate: Absorption in Prozent der totalen Absorption.

Das Kolorimeter mißt zwar die Farbintensität, sagt aber nichts aus über die Form, in welcher der Farbstoff vorliegt. So wird echt oder kolloidal gelöstes Farbstoffnukleat noch mitgemessen, obwohl eine Permeation in Zellen höherer Pflanzen in dieser Form als ausgeschlossen gelten kann. Für die Aufnahme in Frage kommende Farbstoffmengen können nur kleiner, keinesfalls aber größer sein. Wenn wir aber von den gemessenen Werten ausgehen, so entspricht im Falle des Akridinorange der in Lösung verbliebene Farbstoff, durch die Nukleinsäure bewirkt, einer mehr als 5fachen Verdünnung, so daß die toxische Konzentration bereits unterschritten ist, wenigstens unter den Bedingungen einer Aufzucht in Nährlösung. Beim Trypaflavin ist die Verminderung der Farbintensität nicht ganz so erheblich. Die verwendete Nukleinsäurekonzentration aber ist so groß, daß sich auch in Nährlösung ein $p_H = 3{,}6$ ergibt. Damit wird die Dissoziation zu ungunsten der diffusiblen Farbbase verschoben.

Die sogenannte „Aufhebung der Akridinwirkung" durch Nukleinsäure beruht also auf einer einfachen Fällungsreaktion in der Außen-

lösung. Eine Diskussion der an sich unvorstellbaren Permeation der Nukleinsäure erübrigt sich, da sie ihre ganze Wirkung außerhalb der Zellen im Kulturmedium zu entfalten vermag. Auch über den Verbleib der Akridinfarbstoffe in der Zelle kann dieser Versuch nichts aussagen, was über die schon seit WAGNER-JAUREGG (1936) und MCILWAIN (1941) bekannte Tatsache der Salzbildung zwischen Akridinfarbstoffen und Nukleinsäure hinausgeht.

5. Wirkung der Nukleinsäure.

Wie der S. 324 besprochene Versuch lehrt, vermag Nukleinsäure eine regelmäßige, wenn auch quantitativ nicht bedeutende zytologische Wirkung auszuüben, allerdings nur in der sehr hohen Konzentration 1:1000. Der Effekt ist qualitativ nicht von dem des Akridinorange zu unterscheiden (Abb. 16—18). Die Nukleinsäure hatte dabei das p_H auf 3,7 erniedrigt. Auch in einem früheren Versuch (s. S. 338), in dem nach Wasserkultur Nukleinsäure 1:10000 wirksam gefunden wurde, betrug $p_H \sim 4$.

KODANI (1948) beschreibt eingehend den Effekt von Nukleinsäure bzw. Na-Ribosenukleat auf die pflanzliche Mitose. Auch BATTAGLIA (1950) widmet ihr eine uns leider nur im Referat zugängliche Untersuchung. Einige der von KODANI (1948) beschriebenen Formen konnten in unseren Präparaten nicht beobachtet werden, in bezug auf Chromatinverklebungen aber stimmen die Befunde überein. KODANIS seltsamer Deutung der Fragmentation, als von einer lokalen Behinderung der Chromosomenreproduktion herrührend, widerspricht bereits BATTAGLIA (1950). Beide Autoren benutzen außerordentlich hochkonzentrierte Lösungen (KODANI: bis zu 8%, meist 2—4%, BATTAGLIA: 8% Na-Ribosenukleat oder 2,5% Na-Desoxyribosenukleat). So schwache Lösungen, wie wir sie verwendeten, sind nach KODANI (1948) völlig unwirksam, falls sie zuvor neutralisiert werden, was mit unseren Erfahrungen (S. 339) übereinstimmt. Zur Neutralisation von bis zu 8%iger Nukleinsäurelösung ist mit bedeutendem Alkaliverbrauch zu rechnen; Erdalkalien, besonders Ca, kommen nicht in Frage, weil ihre Nukleate schwer löslich sind. Es fällt nun sehr schwer zu glauben, ein nach derartiger Behandlung auftretender Effekt sei allein der Nukleinsäure zuzuschreiben. An deren Fähigkeit, in die Zellen zu permeieren, zweifelt auch KODANI (1948), weshalb dafür Spaltprodukte verantwortlich gemacht werden. Adenylsäure (1%ig) und Uracil in gesättigter Lösung sollen ähnliche Wirkung zeitigen.

In einem eigenen Versuch mit Uracil (1:1000, p_H 6,2, sonst dieselben Bedingungen wie im Nukleinsäureversuch) war keine Wirkung festzustellen. Daraus kann mit Rücksicht auf die übrigen Bedingungen den Ergebnissen KODANIS (1948) noch nicht generell widersprochen werden,

jedoch kommt zur Erklärung der selbst beobachteten Nukleinsäurewirkung Uracil nicht in Frage, da eine Uracillösung 1:1000 ein Vielfaches von diesem Stoff im Vergleich zu Nukleinsäure 1:1000 enthalten muß, denn letztere kann nur zu einem kleinen Prozentsatz in ihre Bestandteile hydrolysiert vorliegen. Wären die geringen in letzterer zu vermutenden Uracilmengen in der Lage, einen zytologischen Effekt zu zeitigen, so müßte dies für die Uracillösung erst recht zutreffen.

Abb. 16.

Es liegt nahe, im sogenannten Nukleinsäure-Effekt eine

Abb. 17.

Abb. 18.

Abb. 16. *Allium cepa*, Wurzelmeristem. Aufzucht in Nährlösung. Nukleinsäure 10^{-3} (p_H = 3,7) 2 Std, Nährlösung 3 Std. Vergr. etwa 1500fach. Färbung: Nuklealreaktion. Anaphase mit Endopyknose.

Abb. 17. Wie Abb. 16. Telophase mit Chromatinbrücke.

Abb. 18. Wie Abb. 16. Junge Ruhekerne mit Chromatinbrücke, Wandbildung.

Ionenwirkung zu vermuten. Wie S. 342 erwähnt, war in unseren wirksamen Nukleinsäurelösungen das p_H stets bedeutend erniedrigt. Der Quellungszustand des Protoplasmas wird durch die H^+-Ionen der Außenlösung sicherlich beeinflußt werden. Da nur die Alkalisalze der Nukleinsäure löslich sind, während sie mit mehrwertigen Ionen unlösliche Salze bildet (Feulgen 1923), muß die Kulturflüssigkeit zu einer einseitigen Alkalisalzlösung werden. Wie der niedrige p_H-Wert angibt, ist damit noch nicht alle Nukleinsäure ausgefällt. Soweit nun aus dem Gewebe Kationen in die Außenlösung gelangen, etwa als Verbindungen organischer Säuren im Sinne Ruhlands (1909) oder an $CO_3^=$ oder HCO_3^- gebunden, mit deren Anwesenheit in lebendem Plasma stets zu rechnen ist (Rabiger 1951),

so werden mehrwertige Ionen als Nukleate ausfallen und nur Alkaliionen in Lösung bleiben. So wird nicht nur in der Nährlösung, sondern auch im Gewebe das Ionengleichgewicht gestört. Die Wirkung der Ionen hätte man sich über ihren Einfluß auf die Quellung von Plasma- und Chromosomenkolloiden vorzustellen.

Nahegelegt wird diese Hypothese durch KODANIS (1948) Vergleich saurer und neutralisierter Nukleinsäurelösungen. Chromosomenaktivität von Ionen ist aber wohl auch in den Versuchen von OEHLKERS (1943) und OEHLKERS und LINNERT (1949) mit anorganischen Salzen anzunehmen. Zwar sehen die Autoren bei der von ihnen beobachteten Änderung der Chromosomen-konfiguration in *Oenothera*-Pollenmutterzellen das primäre Ereignis im Auftreten von Chromosomen- und Chromatidenbrüchen mit nachfolgender aberranter Vereinigung freier Bruchflächen, während in unseren Versuchen die Chromatinverklebung als erste morphologische Wirkung beobachtet wird. Dieser Unterschied scheint nicht gravierend. In neuerer Zeit wird betont, daß kein prinzipieller Unterschied in der Auslösung von Chromosomenmutationen durch chemische Agentien und Röntgenstrahlen besteht (OEHLKERS und LINNERT 1949, D'AMATO 1950). Daß sich aber der Röntgeneffekt der Mitose in Chromatinverklebungen äußert, haben PEKAREK (1927) und MARQUARDT (1937) gezeigt. Auch die Versuche von HOHL (1949) mit $CaCl_2$ und hypertonischer Zuckerlösung und besonders seine Kombinationsversuche einzeln unwirksamer Dosen von $CaCl_2$ mit Röntgenstrahlen sprechen für eine indirekte Wirkung, und zwar ebenfalls über einen Einfluß auf die Quellung der Zellkolloide.

Zu einer zuverlässigen Klärung der „Nukleinsäurewirkung" müßten Versuche mit einer Säure von nicht permeierendem Anion bei p_H 3—4 und solche mit deren Alkalisalz in neutralem Medium herangezogen werden. Die Versuche dürften recht umständlich werden, da nur mit kleinen Störungszahlen zu rechnen sein wird (vgl. Nukleinsäure, Tabelle 1, S. 340). Da diese Arbeit vorwiegend auf den Effekt von Farbstoffen hinzielt, wurde auf eine weitere Analyse der Nukleinsäurewirkung verzichtet.

D. Versuche zur Messung der Redoxpotentiale.

Um beurteilen zu können, ob den Vorstellungen BECKERS (1932, 1933) von einer kausalen Beziehung des Redoxpotentials zur Mitoseaktivität von Farbstoffen (s. S. 324) allgemeinere Geltung zukommt, mußte entschieden werden, ob die in unseren Mitoseversuchen verwendeten Farbstoffe in der lebenden Zelle reduziert werden können. Erwies sich der vitale Kern- und Plasmafarbstoff Prune pure als Redoxindikator, so müßte es möglich sein, damit die Redoxpotentiale intakter Zellen zu messen. Dies erschien um so aussichtsreicher, als einige Be-

obachtungen beim Färben von Zwiebelwurzeln mit Prune pure auf eine Reduktion in vivo hinwiesen.

1. Zur Reduktion des Prune pure in Pflanzenzellen.

a) Nachweis einer vorangegangenen Reduktion durch Reoxydation des Farbstoffs. Werden Adventivwurzeln von *Allium cepa* in eine mäßig konzentrierte Prune pure-Lösung (1:10000, 1:20000, 1:30000) gebracht, so ist häufig makroskopisch zu beobachten, daß sich die meristematische Zone langsamer und weniger intensiv färbt als die übrigen Teile. Werden gefärbte Organe in ihr altes Kulturmedium zurückgebracht, so erscheint oft nach einiger Zeit das Meristem farblos, während Streckungs- und Dauerzone nur wenig heller werden. Schneidet man solche Organe mit ganz oder teilweise entfärbten Spitzen (zwischen der blauvioletten Farbe des Prune pure und der gelblichen Eigenfarbe der Wurzelspitzen treten grüne Mischfarben auf) ab und tötet sie mit Ätherdampf, Alkohol, oder auch durch Welkenlassen an der Luft, so kehrt die intensive Farbe zurück. Dabei vertieft sich meist auch die Farbe der Dauerzone, während ungefärbte Wurzeln beim Abtöten farblos bleiben. Das Prune pure war in der lebenden Zelle zum Leukoprodukt reduziert worden, das nun beim Absterben vom Luftsauerstoff zur Farbe zurückoxydiert wird. Der Versuch gelingt leicht bei 1—2stündiger Färbezeit und Prüfung der entfärbten Wurzeln während der folgenden 2—6 Std. Wurzeln, welche sich auch in farbloser Kulturlösung nicht zu entfärben vermögen, sind überfärbt und gehen ein, oft allerdings erst nach Tagen. Auch das Wiederauftreten der Farbe in zuvor durch Reduktion entfärbtem Meristem ist ein Vorbote des Absterbens.

Für mikroskopische Untersuchung empfiehlt sich ein rascher wirkendes Oxydationsmittel. Ein Tropfen kalt gesättigter Chinonlösung, unter das Deckglas gesaugt, oxydiert das Leukoprodukt, auch in der Zelle, sehr rasch zum Farbstoff. Natürlich bedeutet diese Oxydation einen schweren Eingriff in die Zelle. Die Plasmaströmung erlischt in den ersten Minuten nach dem Eindringen des Chinons. Deplasmolyse ist aber oft noch möglich. Läßt man z. B. Epidermisstücke der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* oder Staminalhaarzellen von *Tradescantia Blossfeldiana* auf Prune pure-Lösung 1:20000 $1^1/_2$—2 Std schwimmen und beobachtet in den folgenden 2—6 Std weiter, so ist die in vivo vorangegangene teilweise Reduktion des Prune pure leicht erkennbar. Die Oxydation mit Chinon steigert die Farbintensität der unteren Zwiebelepidermis vorwiegend in der Vakuole, die der oberen besonders im Plasma. Das Leukoprodukt scheint also von denselben Teilen der Zelle gebunden zu werden, wie die oxydierte Stufe des Farbstoffes. Da aber eine Verschiebung des Farbstoffes vom Plasma zur Vakuole ähnlich der oben (S. 326) besprochenen

nicht ausgeschlossen, wenn auch nicht wahrscheinlich erscheint, sei bezüglich der Lokalisation auf den folgenden Abschnitt verwiesen. Man versteht leicht, daß mancher scheinbare Mißerfolg früherer Autoren bei der Vitalfärbung mit Prune pure von dessen leichter Reduzierbarkeit herrühren könnte[1].

b) Fluoreszenzoptischer Nachweis des Leuko-Prune pure. Das in der Zelle zum Leuko-Farbstoff reduzierte Prune pure direkt nachzuweisen gelingt mit dem Fluoreszenzmikroskop.

Im Gegensatz zur nichtfluoreszierenden oxydierten Stufe leuchtet Leuko-Prune pure im UV-Licht grün, im Blaulicht grüngelb auf. Mit letzterem wurde am lebenden Objekt gearbeitet. Die Fluoreszenzhelligkeit ist im Vergleich mit der des Akridinorange leider nur gering. Im sauren Bereich der Farblösung ist die Fluoreszenzfarbe stärker und mehr grüngelb als am Neutralpunkt, in dessen Nähe ausgesprochener gelb und die Helligkeit schwächer. Im alkalischen Gebiet wandert der Farbton nach gelb-orange und die Helligkeit nimmt noch etwas ab, ist aber selbst bei p_H 10,4 noch nicht erloschen. Verdünnung bewirkt nur geringe Helligkeitsabnahme. Um p_H 7 zeigt eine Lösung 1:5000 gelbgrüne Fluoreszenz, ab $1:10^4$ wird diese gelblich und die Intensität nimmt bis $1:10^5$ langsam ab, doch ist im Reagenzglas auch die Farbe in Verdünnung $1:10^6$ gerade noch zu erkennen.

Als mögliche Fehlerquelle ist zu beachten, daß aus Prune pure auch noch auf anderem Wege als durch Reduktion schwach gelborange fluoreszierende Produkte entstehen können. Diese Umwandlung ist bei Zimmertemperatur erst nach Stunden bis Tagen festzustellen. Die Fluoreszenz dieser Umwandlungsprodukte ist gegen Chinon beständig. Es genügt daher, um eine Täuschung zu vermeiden, am Ende der Beobachtung zu prüfen, ob die Fluoreszenz durch Chinon gelöscht wird. Dies geschieht bei Leuko-Prune pure sehr rasch. Auf Eigenfluoreszenz des Objektes wurde selbstverständlich gesondert geachtet, denn solche wird zum Teil durch Oxydationsmittel ebenfalls gelöscht; auch die des Chlorophylls wird durch Chinon erheblich gemindert.

Staminalhaare von *Tradescantia Blossfeldiana* und *T. virginica* und Haarzellen junger Triebe von *Cucurbita pepo*, in Prune pure 1:10000 20—35 min gefärbt, lassen in gewöhnlichem Licht nur sehr wenig aufgenommenen Farbstoff erkennen. Das fluoreszierende Leuko-Prune pure aber ist nachzuweisen. Der Farbstoff scheint, besonders beim Kürbishaar, nicht durch die kutinisierten Außenwände, sondern basal vom angeschnittenen Gewebe aus einzudringen und kann oft innerhalb des

[1] Dagegen wird das verschiedene Verhalten der oberen und der unteren Zwiebelepidermis zu Prune pure (vgl. S. 325) und die Verschiebung des Farbstoffes vom Plasma zur Vakuole in der Zelle der unteren Epidermis (S. 326) nicht etwa nur durch Reduktion vorgetäuscht.

Zytoplasmas von Zelle zu Zelle fortschreitend beobachtet werden. Zunächst zeigt sich Leuko-Prune pure nur im Zytoplasma, später auch in der Vakuole, beim Kürbis auch in den ja von Plasma durchsetzten Zellwänden. Die Zellkerne sind regelmäßig von einem Hof fluoreszierenden Plasmas umgeben, bleiben aber selbst dunkel. Der Kern könnte demnach unfähig sein, den von ihm aufgenommenen Farbstoff zu reduzieren. Sicher ist, daß er Leuko-Prune pure nicht in nachweisbaren Mengen zu binden vermag. Eine solche Möglichkeit einer besonders geringen oder fehlenden Reduktionsfähigkeit im Kern bleibt auch bestehen, jedoch ist im Kürbishaar damit zu rechnen, daß die Hauptmenge des Farbstoffes bereits im angrenzenden Gewebe reduziert wurde und als Leukoprodukt in die Haare eindringt. Deren Reduktionsleistung braucht deshalb nicht geringer zu sein, sie kann gar nicht wesentlich kleiner sein, denn sonst müßte der Farbstoff dort reoxydiert werden. Der Reduktionsort braucht also nicht mit der Stelle identisch zu sein, an der sich das Leukoprodukt nachweisen läßt. Wenn auch der Kern keine erkennbaren Mengen des Reduktionsproduktes enthält, so kann demnach noch nicht mit Sicherheit auf eine geringere Reduktionsleistung geschlossen werden, so naheliegend dies auch sein mag, denn kleinste, sich dem Nachweis entziehende Mengen könnten vom Kern ins Zytoplasma auswandern. Als sicher kann nur die Reduktion im Plasma bezeichnet werden, da Verschiebungen der Speicherung, wie bereits oben erwähnt, nur von ihm zur Vakuole, nicht aber umgekehrt, festzustellen sind.

Die Zwiebelepidermis eignet sich wegen gelegentlich auftretender störender Eigenfluoreszenz wenig für derartige Untersuchungen, doch bestätigt sich auch hier das Gesagte. Leuko-Prune pure in der Membran läßt sich häufig, wenn auch nicht ganz regelmäßig beobachten, auch wenn sich das Plasma durch Plasmolyse auf beiden Seiten der Zellwand abgehoben hat. Fluoreszierende Zellwände erscheinen oft völlig einheitlich in ihrer ganzen Breite, gelegentlich konnte aber auch beobachtet werden, daß nur dem Zellinnern zugekehrte Randzonen aufleuchten, während eine schmale Mittellinie dunkel bleibt. Es kann sich bei dieser Membranfluoreszenz nicht nur um zuvor im Plasma reduzierten Leuko-Farbstoff handeln, denn dieser ist nur beständig, solange Reoxydation verhindert wird. Der Effekt kann nur von Plasma herrühren, das auch bei Plasmolyse in und an der Zellwand zurückbleibt. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die innige Durchdringung der Membran mit Plasma, im Sinne Schumachers (1942).

2. Nachweis bevorzugter Reduktionsorte mittels Triphenyltetrazoliumchlorids.

Seit Kuhn und Jerchel (1941) Tetrazoliumsalze als Reduktionsindikatoren beschrieben, wurde besonders das 2,3,5-Triphenyltetra-

zoliumchlorid vielfach benützt, zunächst von LAKON (1942) zur Keimfähigkeitsprüfung, in neuerer Zeit zum Nachweis bevorzugter Reduktionsorte (Literatur bei RIED, 1952). Es erscheint hierzu geeignet, denn durch Reduktion entsteht aus dem farblosen wasserlöslichen Tetrazoliumsalz ein intensiv rot gefärbtes, in Wasser außerordentlich schwerlösliches Formazan. Wegen der geringen Löslichkeit des Reduktionsproduktes und der Irreversibilität des Vorganges läßt sich das Redoxpotential nicht in üblicher Weise ermitteln. JERCHEL und MÖHLE (1944) gelang es auf indirektem Wege das Potential näherungsweise zu bestimmen. Es wird mit —83 mV angegeben. So wertvoll diese Potentialangabe für Schlüsse auf beteiligte Redoxsysteme in der Zelle sein mag, so darf es doch keinesfalls mit dem durch reversible Systeme unter aeroben Bedingungen gemessenen Potential verglichen werden. Die Reduktion reversibler Indikatoren ist unter aeroben Verhältnissen einmal abhängig von zelleigenen H_2-Donatoren, andererseits aber auch von der Geschwindigkeit, mit welcher der Indikator vom Luftsauerstoff zurückoxydiert wird. Das unlösliche und irreversibel reduzierte Triphenyltetrazoliumchlorid ist der Reoxydation entzogen. Damit nähern sich die Bedingungen denjenigen, welche für reversible Systeme unter anaeroben Verhältnissen gelten. Bei Abwesenheit von Luftsauerstoff ist eine außerordentlich hohe Reduktionsleistung tierischer Zellen seit den Versuchen von COHEN, CHAMBERS und REZNIKOFF (1928) und CHAMBERS, POLLACK und COHEN (1929) bekannt. Vor dem Versuch, die Lokalisation von Reduktionsorten bis in kleinste Dimensionen zu verfolgen, muß gewarnt werden, denn trotz gleichmäßiger Verteilung in 10%iger Gelatine fällt der Farbstoff bei sehr langsamer Reduktion, z. B. durch diffuses Tageslicht, in Form kleiner Kristalle aus; er vermag also trotz seiner geringen Löslichkeit zu den Kristallisationszentren hin zu diffundieren. Dies zeigen auch die Beobachtungen HEYEKS (1950) über die bevorzugte Speicherung des Formazans in Fettzellen und fetthaltigen Zellkomponenten.

Läßt man gesunde Wurzeln von *Allium cepa* oder *Zea mays* im Dunkeln in Lösungen 1:10000 des Tetrazoliumsalzes eintauchen, so sind nach 8—12 Std die wachstumsfähigen Spitzen der Wurzeln tief rot gefärbt, während die Dauergewebe farblos bleiben und auch nach Tagen nur eine zartrosa Färbung annehmen. Es wird damit die schon S. 345 beschriebene höhere Reduktionsleistung des Wurzelmeristems bestätigt.

In Epidermisstücken von *Allium cepa*, Haaren von *Cucurbita pepo* und in den Staminalhaaren von *Tradescantia virginica* konnte keine Reduktion des Tetrazoliumsalzes beobachtet werden, auch wenn stärkere Lösungen als 10^{-4} verwendet wurden. Dies kann nicht von zu geringer Endosmose des Indikators herrühren. Triphenyltetrazoliumchlorid ist

lichtempfindlich, was schon LAKON (1942b, S. 443) betont. Durch Bestrahlung mit dem starken Blaulicht einer Lumineszenzeinrichtung wird die farblose oxydierte Stufe sehr rasch in den roten Farbstoff umgewandelt. So läßt sich der Farbstoff durch kurze Bestrahlung (< 1 min) auch in solchen Zellen nachweisen, welche nach mehrstündigem Aufenthalt in der Tetrazoliumsalzlösung keine Rotfärbung angenommen hatten.

Zur mikroskopischen Untersuchung wurden junge Keimpflanzen von *Zea mays* in Tetrazoliumsalzlösungen 10^{-4} eingelegt und nach etwa 12 Std Handschnitte durch die gefärbten Wurzelspitzen angefertigt. Das Reduktionsprodukt ist in Form roter Körnchen im Zytoplasma zu erkennen. Auch in den Zellkernen läßt es sich gelegentlich nachweisen, aber nicht innerhalb der Nukleolen. Der Nachweis von Formazan innerhalb des Kernes gelang mit Sicherheit nur in solchen Zellen, bei denen nicht nur der Nukleolus sondern auch die äußere Begrenzung des Zellkerns deutlich zu erkennen war, was bei lebenden meristematischen Zellen als ein Zeichen beginnender Desintegration gelten muß und von der Präparation herrühren dürfte, denn es ist stets nur in wenigen Zellreihen eines Schnittes zu beobachten. Formazankörnchen sind in solchen Zellen nicht selten innerhalb des Kernes, besonders am Rande gegen den Nukleolus zu erkennen, allerdings stets in geringer Zahl. Ein dichterer Kranz pflegt, im Zytoplasma liegend, den Kern selbst zu umgeben. Es wurden dabei stets Farbstoffkörnchen nicht ganz regelmäßiger Gestalt beobachtet, also weder Kristalle, wie sie nach allzu langer Einwirkung der Tetrazoliumlösung oder in Gefriermikrotomschnitten auftreten, noch Farbstofftropfen welche auf eine selektive Speicherung in Fetttropfen im Sinne HAYEKS (1950) hindeuten würden. Als hauptsächlicher Reduktionsort kann demnach das Zytoplasma gelten, aber auch der Zellkern scheint, allerdings in weit geringerem Maße, zur Reduktion befähigt. Lediglich den Nukleolen, wie auch den Vakuolen geht diese Fähigkeit völlig ab.

Wenn COHEN und Mitarbeiter (1928) sowie CHAMBERS und Mitarbeiter (1929) dem Kern jede Fähigkeit zur Oxydation und Reduktion absprechen (Objekt: *Amoeba dubia*, Echinodermeneier), so kann dies an unserem Objekt nicht bestätigt werden, denn es wurde lediglich eine wesentlich geringere Reduktionsleistung im Vergleich zum Zytoplasma festgestellt. Eine solche scheint auch nach den Versuchen von DOUNCE (1943), SCHNEIDER (1946) und LE PAGE und SCHNEIDER (1948) über die Verteilung einiger wichtiger Enzyme auf verschiedene Fraktionen tierischer Gewebe verständlich.

3. Elektrometrische Titration der Farbstoffe.

Ein Redoxsystem ist durch das Potential E' bei einem Mengenverhältnis der oxydierten zur reduzierten Stufe $= 1:1$ charakterisiert, aus welchem der r_H-Wert errechnet wird. Zur Messung wurde die oxydative Titration des Leuko-

farbstoffes gewählt. Eine Probe des Farbstoffes in gepufferter Lösung wird mit Wasserstoff in Gegenwart eines Palladium-Katalysators hydriert. Nach völliger Entfärbung kann aus dem Potential einer platinierten Platinelektrode das $p_{.1}$ errechnet werden: $p_{.1} = \frac{E}{\delta} + 4{,}62$, wobei $E = E_x - E_o$ (MICHAELIS-RONA 1930 S. 191). Dabei ist E_x der Potentialunterschied der gesättigten Kalomelelektrode gegen Wasserstoffelektrode in der Versuchslösung, E_o der Potentialunterschied der gesättigten Kalomelelektrode gegen Wasserstoffelektrode in Standardazetat, δ eine temperaturabhängige Konstante (MICHAELIS-RONA 1930, S. 180). Nachdem der Wasserstoff durch sorgfältig von O_2 befreiten Stickstoff verdrängt ist, wird der Leukokörper mit Chinonlösung oxydierend titriert und das Potential an der blanken Platinelektrode verfolgt. Das Ende der Titration ist erreicht, wenn sich das Potential sprunghaft ändert, d. h. sobald das Leukoprodukt wieder völlig zum Farbstoff oxydiert ist. Sind bis zum Potentialsprung a cm³ Chinonlösung verbraucht, so war bei $a/2$ cm³ das Verhältnis oxydierte : reduzierte Stufe = 1:1. Dieses Potential (bei $a/2$ cm³) charakterisiert die Redoxeigenschaften des Systems und wird mit E' bezeichnet.

Das aus praktischen Gründen gegen die gesättigte Kalomelelektrode gemessene Potential wird dann auf die Normal-Wasserstoffelektrode umgerechnet: $E_h = E_1 + E_o + E_3$, wobei E_1 das Potential der Redoxelektrode gegen die gesättigte Kalomelelektrode, E_o s. oben und E_3 das temperaturabhängige Potential der Standardazetatelektrode gegen Normal-Wasserstoffelektrode ist (s. MICHAELIS 1933, S. 51 und 46). Die im folgenden genannten Potentiale sind stets auf die Normal-Wasserstoffelektrode bezogen.

Der Verlauf einer oxydativen Titrationskurve ist bestimmt durch die Gleichung $E = E' + \frac{58{,}1}{n} \cdot \log \frac{x}{a-x}$ mV (MICHAELIS-RONA 1930, S. 222), wobei a der Verbrauch an Oxydationsmittel in Kubikzentimetern, n die Elektronenzahl ist; sie gibt an, um wieviel Elektronen (oder H-Atome) die oxydierte Stufe ärmer als die reduzierte ist. Die Konstante 58,1 ist temperaturabhängig (s. MICHAELIS 1933, S. 39 und 95).

Bei der Titration von Prune pure in neutralem Medium treten Komplikationen auf. Das reduzierte Produkt scheint schwer löslich zu sein, denn in neutralem oder schwach saurem Medium ist die hydrierte Versuchslösung eine trübe Suspension. Das Potential stellt sich auch nicht sofort nach Zugabe des Oxydans ein, sondern erreicht einen annähernd konstanten Wert oft erst nach 1—2 Std. Dies gibt zu Bedenken Anlaß, da mit einer Ausdehnung der Titration auf etwa 7 Std (Gesamtversuch dann etwa 9 Std) die Gefahren durch kleinste Beimengungen von O_2, namentlich infolge nicht völlig luftdichten Abschlusses des Elektrodengefäßes und Veränderung des Titers der Oxydationslösung erheblich anwachsen. So weicht denn auch die bei p_H 6,98 gewonnene Titrationskurve nicht unbeträchtlich vom theoretisch zu fordernden Verlauf ab (Abb. 19). Dies kann nicht an unbekannten Zufälligkeiten liegen, da ein entsprechender Verlauf auch bei wiederholten Messungen zu beobachten ist (p_H 6,96, 5,81, 4,63). Erst im stärker sauren Gebiet nimmt die Kurve die der Theorie gemäße Form an (p_H 3,52), während im noch stärker sauren Bereich (p_H 3,17, 2,82) wieder Abweichungen, wenn auch nur

geringfügige, auftreten. Die Potentialeinstellung erfolgt in saurer Lösung prompt, und die Farblösung ist klar. Es liegt nahe, die Verzögerung in der Potentialeinstellung der beschränkten Löslichkeit der Leukobase in der Nähe des Neutralpunktes zuzuschreiben. Auch der Neigung des

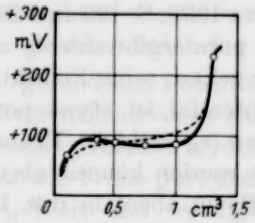


Abb. 19.

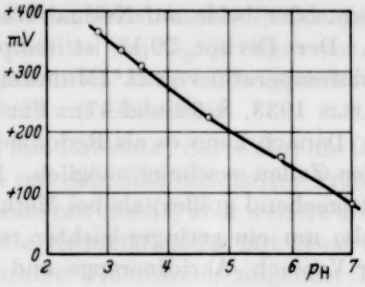


Abb. 20.

Abb. 19. Oxydative Titration von Leuko-Prune pure. Abszisse: Verbrauch an Chinonlösung in Kubikzentimeter. Ordinate: Potential in Millivolt, auf Normal-Wasserstoffelektrode reduziert. Veronalpuffer $p_H = 6{,}98$. ——— Empirische Kurve; ------- theoretische Kurve (für $n = 2$).

Abb. 20. Redoxpotential von Prune pure bei verschiedenen p_H-Werten.

Farbstoffes selbst zu hydrolytischer Zersetzung unter Abscheidung der gleichfalls schwerlöslichen Farbbase, ist Rechnung zu tragen (Ruhland 1908b, S. 775). Trotzdem lassen sich Höhe des Potentials und Zuverlässigkeit der gemessenen Werte beurteilen, und zwar durch Vergleich der Meßergebnisse bei verschiedenen p_H-Werten (Tabelle 2).

Tabelle 2.

p_H	E' (mV)	Puffer
2,82	365,5	Phosphat-HCl
3,17	337,7	Phosphat-HCl
3,52	*310*	*Phosphat-HCl*
4,63	227,5	Phosphat
5,81	164	Phosphat
6,98	87,3	Veronal-HCl

Die Abhängigkeit des E' vom p_H zeigt Abb. 20. Zwischen p_H 4,63 und 6,98 ändert sich das Potential um 59,6 mV je p_H-Einheit. Dies entspricht der sehr häufigen ~ 60 mV-Stufe, z. B. Gallocyanin (Michaelis 1933, S. 101). Im stärker sauren Bereich wird die Potentialstufe je p_H-Einheit größer, zwischen p_H 4,63 und 2,82 beträgt sie 76 mV zwischen p_H 3,52, 3,17 und 2,82 um 80 mV. Auch darin steht Prune pure nicht allein da, so kommt bei Methylenblau im sehr sauren Gebiet eine Neigung von 90 mV vor. Erscheint das am Neutralpunkt gemessene Potential von Prune pure auch nicht von vornherein über jeden Zweifel erhaben, so wird das Ergebnis doch wesentlich gestützt durch Extrapolation der Werte, welche im stärker sauren Gebiet leichter und mit größerer Sicherheit gewonnen werden können. *Das angegebene Potential kann um ein geringes zu hoch sein, doch besteht über seine Lage nahe dem*

gemessenen Wert kein Zweifel. So ist es erlaubt, den bei p_H 6,98 gemessenen Potentialwert $E' = 87{,}3$ mV (oder $E' = 86{,}1$ für p_H 7) der Berechnung des r_H zugrunde zu legen. Es beträgt dann $r_H = \frac{E'_h}{29{,}15}$ (für 21°), wobei $E'_h = E' - E_x$ (s. oben). Beide Werte sind entweder wie gemessen, oder beide auf Normal-Wasserstoffelektrode reduziert einzusetzen. Der Divisor 29,15 ist temperaturabhängig und gilt für die Versuchstemperatur von 21° (MICHAELIS-RONA 1930, S. 180 und 208 und MICHAELIS 1933, S. 39 und 47). Für Prune pure ergibt sich $r_H = 16{,}9$ (p_H 7). Danach kann es als Redoxindikator gelten, seine Reduktion in lebenden Zellen erscheint möglich. Das Potential ist etwas positiver (r_H entsprechend größer) als bei Methylenblau ($r_H = 14{,}4$). Prune pure muß also um ein geringes leichter reduziert werden können als dieses.

Der Versuch, Akridinorange und Trypaflavin ebenfalls mit H_2 am Pd-Katalysator zu reduzieren und anschließend oxydierend zu titrieren, schlug fehl. Während der „Hydrierung" tritt keine Farbänderung auf. Das Potential nimmt nach Verbrauch weniger Zehntel Kubikzentimeter des Oxydans seinen definitiven Wert an, der sich auch bei großem Überschuß nicht ändert. Die „Oxydationskurve" stimmt völlig mit der überein, welche man erhält, wenn das Lösungsmittel (Veronalpuffer) mit Pd-Katalysator in Abwesenheit des Farbstoffes entsprechend behandelt wird. Hieraus folgt, daß es sich bei diesen Akridinfarbstoffen nicht um reversible Redoxsysteme handeln kann.

4. Bemerkungen zur Größe der Potentiale.

Das oben S. 352 mit 86,1 mV (für $p_H = 7$) angegebene Potential des Prune pure gilt bei 50%iger Reduktion. Für 99% entspricht es ~ 28 mV, für 1%ige Reduktion ~ 145 mV. Bei partieller Reduktion zwischen 1 und 99% kann mit einem Potential von 86 mV $\pm$ 58 mV gerechnet werden, was einem $r_H = 16{,}9 \pm 2$ r_H-Einheiten entspricht. Derartige partielle Reduktion war bei allen geprüften Objekten (S. 345—347) festzustellen; ihre Potentiale liegen also im Bereich obiger Werte. Im Zwiebelwurzelmeristem, wo fast völlige Reduktion beobachtet wurde, ist $r_H < 17$. Zumindest für viele Wurzelspitzen dürfte es erlaubt sein, mit 99%iger Reduktion zu rechnen und demnach das Potential mit ~ 30 mV und $r_H \sim 15$ anzugeben. Der Größenordnung nach stimmen diese Werte auffallend gut, aber wohl nur zufällig mit den von RUGE (1947) in *Extrakten* aus gequollenen Hafer- und Gerstenkörnern gefundenen überein (Ernte 1943 $r_H \sim 17$, Ernte 1941 $r_H \sim 15$). Einen Vergleich verbietet die unterschiedliche Methodik. Die unsere hat den Vorteil, daß sie nicht nur Durchschnittswerte liefert, sondern ganze Organe in situ, aber auch einzelne intakte Zellen zu untersuchen erlaubt, ohne irgendwelchen Eingriff, da ja der Redoxindikator Prune pure

freiwillig permeiert und von den lebenden Teilen der Zelle gespeichert wird.

Die auffallend hohe Reduktionsleistung im Meristem der Zwiebelwurzel, wie sie unsere Versuche mit Prune pure und Tetrazoliumchlorid dartun, steht mit dem von RUHLAND und RAMSHORN (1938) beobachteten Vorwalten der aeroben Gärung in aktiven Meristemen in Einklang. Denn vorwiegende Gärung trotz freien Zutritts von O_2, ja sogar von reiner O_2-Atmosphäre, wie sie von den genannten Autoren festgestellt wurde, ist nur denkbar bei hoher Fähigkeit zur Reduktion.

Die gefundenen Potentiale sind Mindestwerte: Sollte also das Gewebe intensiver reduzieren, so kann dies mit dem Redoxindikator Prune pure nicht mehr gemessen werden. Es wäre erwünscht, über weitere eventuell ähnlich wie Prune pure konstituierte Redoxfarbstoffe mit etwas kleinerem r_H-Wert und womöglich stärkere Fluoreszenz zeigender Leukoverbindung zu verfügen, welche wie dieses von der lebenden Zelle aufgenommen und gespeichert werden.

E. Besprechung.

Akridinorange, Trypaflavin, Prune pure und Nukleinsäure können unter geeigneten Bedingungen qualitativ gleiche Chromatinverklebungen im Wurzelmeristem von *Allium cepa* hervorrufen. Außerordentlich verschieden aber sind die toxischen Schwellen. Akridinorange muß in etwa 10fach höherer Konzentration geboten werden als Trypaflavin, um ein ähnlich regelmäßiges Ergebnis zu erzielen. Prune pure bringt erst nahe der letalen Dosis pathologische Zellteilungsbilder hervor, vermag aber schon in zytologisch nahezu unwirksamer Verdünnung weitgehende Teilungsruhe zu erzwingen. Umgekehrt hemmen die Akridinfarbstoffe erst in hoher Konzentration den Eintritt in die Zellteilung, während sie schon in verdünnter Lösung Verklebungen an den Chromosomen hervorrufen. Dieser hohen Chromosomenaktivität entspricht bei Akridinorange eine bevorzugte Bindung an die Chromatinstrukturen der Zelle (vgl. auch BAUCH, 1949, für das chemisch nahestehende Trypaflavin). Wie S. 330 ausgeführt, dürften bei der Speicherung des Farbstoffes Bindungen gelöst und andere basische Stoffe verdrängt werden. Ist die Oberfläche der Chromosomen normalerweise so beschaffen, daß ein Zusammenfließen unmöglich ist, auch dann, wenn sie sich sehr nahekommen, etwa während der Differenzierung oder in entspiralisiertem Zustand, so verliert die Grenzschicht diese Fähigkeit, wenn das Gefüge durch die Anreicherung von Akridinorange gestört wird.

Die sog. Aufhebung der Mitosewirkung von Akridinfarbstoffen durch Nukleinsäure beruht auf Salzbildung in vitro, wodurch nur ein kleiner unwirksamer Teil der ursprünglichen Farbstoffmenge in Lösung

belassen wird. Alle Folgerungen, welche von der Vorstellung einer Aufnahme und demnach Anwesenheit beider Stoffe im Innern der Zelle ausgehen, sind zumindest für höhere Pflanzen hinfällig. Es erscheint angebracht, auch der Deutung entsprechender Versuche an Pilzen und Bakterien mit Skepsis zu begegnen[1] (WAGNER-JAUREGG 1943, S. 340). Zur Frage der Mitosebeeinflussung durch Nukleinsäure kann nur auf die S. 344 entwickelte Hypothese verwiesen werden.

Die Annahme BECKERS (1932, 1933), daß leicht reduzierbare Farbstoffe besonders häufig Chromosomenpyknose auslösen, indem sie die Oxydation in der Zelle steigern und dadurch die Plasmaviskosität erhöhen, kann bei unseren Agentien nicht bestätigt werden, denn das der Forderung BECKERS entsprechende Prune pure ist sehr wenig wirksam, während die ausgesprochen chromosomenaktiven Akridinfarbstoffe keinen Einfluß auf die intrazellulären Redoxverhältnisse ausüben.

Prune pure wird zwar in oxydierter Form von Plasma und Kern gespeichert, da es aber vom Zwiebelwurzelmeristem, falls nicht in letaler Dosis angeboten, nahezu völlig reduziert wird (vgl. S. 345f.), so ist die Speicherung der Leuko-Stufe ausschlaggebend. Diese kann zwar im Zytoplasma, aber nicht im Kern nachgewiesen werden (s. S. 347). Die geringe Chromosomenaktivität erklärt sich daraus, daß der Farbstoff (als Leukoprodukt) nicht mit den empfindlichen Strukturen selbst reagiert, in direktem Gegensatz zu den Akridinfarbstoffen.

Leuko-Prune pure ist autoxydabel, unter aeroben Verhältnissen muß es deshalb in der Zelle als Potentialbeschwerer wirken. Wenn nach BARRON (1929) die Oxydation von Zucker in roten Blutkörperchen, welche diesen normalerweise nur zu glykolysieren vermögen, in Gegenwart von Methylenblau weiter verläuft, so ist ein derartiger Einfluß auf die Oxydation in der Zelle bei Prune pure mit seinem etwas höheren Potential erst recht zu vermuten. Nach RUHLAND und RAMSHORN (1938) ist meristematisches Wachstum regelmäßig mit aerober Gärung verbunden, was neuerdings auch die Versuche von GODDARD (1948) an jungen Reis- und Erbsenkeimlingen bestätigen. Sollte nun Prune pure im vermuteten Sinn die Oxydation in der Zelle fördern, so müßte es die Atmung des Meristems derjenigen nichtmeristematischer Gewebe angleichen.

Nach FREY-WYSSLING (1938) ist auch die Struktur des Protoplasmas r_H-abhängig. Ein hohes r_H begünstigt die Bildung homöopolarer Valenzbindungen, aber auch die Lösung von Ätherbindungen. Welche dieser möglichen Reaktionsweisen für die Hemmung der Teilungsintensität

[1] Auch BÜNNING (1949) scheint bei der Besprechung der Arbeiten von MASSART (1947) mit der Aufnahme sowohl des Farbstoffs als auch der Nukleinsäure durch Bakterien zu rechnen, was nach unserer Erfahrung unwahrscheinlich ist.

(s. S. 333f.) und für die nahe der toxischen Schwelle beobachteten Pyknosen verantwortlich zu machen ist, dürfte vorläufig nicht zu entscheiden sein.

Der durch Prune pure ermöglichten Aussage (s. S. 352) über das Redoxpotential in Pflanzenzellen kommt die Bedeutung eines orientierenden Richtwertes zu. Die Messung erfolgte unter schonendsten Bedingungen, die Genauigkeit leidet lediglich darunter, daß die gegenseitigen Mengenverhältnisse von oxydierter und reduzierter Stufe in der Pflanze nicht gemessen, sondern nur roh geschätzt werden konnten. Die Zwiebelwurzel zeigt im Meristem größere Reduktionsintensität als im Dauergewebe, was die schon aus dem Vorwalten einer aeroben Gärung in Meristemen (Ruhland und Ramshorn 1938) hervorgehende geringe Neigung zur Oxydation bestätigt.

Bezüglich der mittels Triphenyltetrazoliumchlorids festgestellten unterschiedlichen Fähigkeit zur Reduktion in den einzelnen Komponenten meristematischer Zellen von *Zea mays* sei auf die Ausführungen S. 349 verwiesen.

F. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Akridinorange wird von den Chromatinstrukturen der Zelle in größerer Menge gebunden als vom Plasma.

2. Akridinorange ist ein Chromosomengift vom Typus des Trypaflavins. Als wenig giftig kann es zu experimenteller Mutationsauslösung empfohlen werden.

3. Die hohe Chromosomenaktivität des Akridinorange, bei relativ geringer Allgemeinschädlichkeit, wird mit der bevorzugten Bindung an das Chromatin erklärt.

4. Die Aufhebung der Wirkung von Akridinorange und Trypaflavin durch gleichzeitig mit ihnen von außen dargebotene Nukleinsäure beruht auf Salzbildung und Ausfällung in vitro, stellt also keine intrazelluläre Reaktion dar.

5. In Nukleinsäurelösungen hoher Konzentration treten, zwar nicht häufig, aber doch regelmäßig Chromatinverklebungen auf. Es wird vermutet, daß diese Wirkung nur auf einer Störung des Ionengleichgewichtes beruht.

6. Nichtletale Konzentrationen von Prune pure erniedrigen im Zwiebelwurzelmeristem die Teilungsintensität, führen aber nur ausnahmsweise zu Chromatinverklebungen.

7. Das Redoxpotential von Prune pure wird gemessen und mit $r_H = 16{,}9$ angegeben. Prune pure wird als Redoxindikator für Vitaluntersuchungen empfohlen.

8. Die lebende Zelle höherer Pflanzen vermag Prune pure teilweise zu reduzieren, was einem $r_H \sim 17 \pm 2$ entspricht. Das Zwiebelmeristem

ist zu sehr weitgehender Reduktion ($\sim 99\%$) befähigt, was einem Potential $\sim +30$ mV oder $r_H \sim 15$ entspricht und mit der dort nachgewiesenen Neigung zu aerober Gärung an Stelle oxydativer Atmung im Einklang steht.

9. Das bei nichttoxischen Konzentrationen von Prune pure im Meristem gebildete Leuko-Prune pure wird bevorzugt im Zytoplasma und nicht im Zellkern gespeichert.

10. Die geringe Chromosomenaktivität des Prune pure dürfte mit der geringen Neigung des Zellkerns, die Leukostufe zu binden, ursächlich zusammenhängen.

11. Versuche mit Triphenyltetrazoliumchlorid bestätigen die höhere Reduktionsleistung der Wurzelmeristeme von *Allium cepa* und *Zea mays* im Vergleich zu den Dauergeweben und zeigen, daß in der meristematischen Maiszelle in erster Linie das Protoplasma, daneben auch der Kern, aber nicht die Nukleolen zur Reduktion befähigt sind.

Für Anregung und Förderung vorstehender Arbeit sei meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. RUHLAND und für die materielle Unterstützung bei der Beschaffung von Geräten und Reagentien der deutschen Forschungsgemeinschaft bestens gedankt.

Literatur.

D'AMATO, F.: Caryologia (Pisa) **2** (2), 229 (1950). Zit. nach Biol. Abstr. **24** (1950). — Protoplasma (Berl.) **39**, 423 (1950). — ARNOLD, E.: Protoplasma (Berl.) **29**, 321 (1938). — BANK, O.: Protoplasma (Berl.) **29**, 587 (1938). — BARRON, E. S. G.: J. of Biol. Chem. **81**, 445 (1929). Zit. nach MICHAELIS 1933. — BATTAGLIA, E.: Caryologia (Pisa) **2** (3), 325 (1950). Zit. nach Biol. Abstr. **25** (9) (1951). — BAUCH, R.: Planta (Berl.) **35**, 536 (1947). — Naturwiss. **34**, 346 (1947). — Biol. Zbl. **68**, 113 (1949). — BECKER, W. A.: Rev. gen. Bot. **44**, 24 (1932). — Cytologia **4**, 135 (1933). — BÖRÅR, K.: Z. Zellforsch. **10**, 73 (1929). — BOGEN, H. J.: Planta (Berl.) **38**, 65 (1950). — BRAUER, I.: Planta (Berl.) **36**, 411, 466; **38**, 91 (1949/50). — BRODERSEN, H.: Strahlenther. **73**, 196 (1943). — BUCHER, O.: Z. Zellforsch. **29**, 283 (1939). — BÜNNING, E.: Fortschritte der Botanik, Bd. XII. 1949. — BUKATSCH, F., u. M. HAITINGER: Protoplasma (Berl.) **34**, 515 (1940). — CHAMBERS, R., H. POLLACK and B. COHEN: Brit. J. Exper. Biol. **6**, 229 (1929). Zit. nach MICHAELIS 1933. — COHEN, B., R. CHAMBERS and P. REZNIKOFF: J. Gen. Physiol. **11**, 585 (1928). Zit. nach MICHAELIS 1933. — DOUNCE, A. L.: J. of Biol. Chem. **151**, 221 (1943). — DRAWERT, H.: Planta (Berl.) **29**, 179 (1938). — Flora (Jena) **134**, 159 (1940). — Z. Naturforsch. **6b**, 141 (1951). — DUSTIN, A. P.: C. r. Soc. Biol. Paris **37**, 1535 (1925). — FERGUSON, J.: Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **127**, 387 (1939). — FEULGEN, R.: Chemie und Physiologie der Nukleinstoffe. Berlin 1923. — FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin 1938. — GEITLER, L.: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung. Berlin 1942. — GODDARD, D. R.: Growth **12**, Suppl. 17 (1948). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **69**, 56 (1950). — GÖSSNER, W.: Verh. dtsch. Ges. Path. (33. Tagg) **1949**, 102. — GROHROCK, E.: Planta (Berl.) **23**, 313 (1934). — HAYEK, H. v.: Naturwiss. **37**, 262 (1950). — HEITZ, E.: Planta (Berl.) **18**, 571 (1932). — HOHL, K.: Experimentelle Untersuchungen über Röntgeneffekte und chemische Effekte auf die pflanzliche Mitose. Stuttgart 1949. — IRVIN, J. L. u. Mitarb.: Science (Lan-

caster, Pa.) **110**, 426 (1949). — JERCHEL, D., u. W. MÖHLE: Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 591 (1944). — JUST, G.: Praktische Übungen zur Vererbungslehre Berlin 1935. — KODANI, M.: J. Hered. **39**, 11, 327 (1948). — KÖLBEL, H.: Z. Naturforsch. **2b**, 382 (1947); **3b**, 442 (1948). — KÜSTER, E.: Z. Mikrosk. **50**, 409 (1933). — KUHN, R., u. D. JERCHEL: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 949 (1941). — LAKON, G.: Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 299, 434 (1942). — LANGE, B.: Kolorimetrische Analyse mit besonderer Berücksichtigung der lichtelektrischen Kolorimetrie. Verlag Chemie 1941. — LETTRÉ, H.: Z. physiol. Chem **271**, 192 (1941). — Z. Krebsforsch. **56**, 5 (1948). — Erg. Physiol. **46**, 379 (1950). — LETTRÉ, H., u. R. LETTRÉ: Naturwiss. **33**, 283 (1946). — MARQUARDT, H.: Z. Bot. **31**, 572 (1937). — MASSART, L., G. PEETERS, J. DE LEY u. R. VERCANTEREN: Experientia (Basel) **3**, 119 (1947). — MASSART, L., G. PEETERS, J. DE LEY, R. VERCANTEREN u. A. VANHOUCKE: Experientia (Basel) **3**, 288 (1947). — MCILWAIN, H.: Biochemic. J. **35**, 1311 (1941). — MICHAELIS, L.: Oxydations-Reduktionspotentiale. Berlin 1933. — MICHAELIS, L., u. P. RONA: Praktikum der physikalischen Chemie, insbesondere der Kolloidchemie, für Mediziner und Biologen. Berlin 1930. — OEHLKERS, F.: Z. Bot. **36**, 55 (1940). — Z. Abstammgslehre **81**, 313 (1943). — OEHLKERS, F., u. G. LINNERT: Z. Abstammgslehre **83**, 136 (1949). — PAGE, B. A. LE, and W. C. SCHNEIDER: J. of Biol. Chem. **176**, 1021 (1948). — PEKAREK, J.: Planta (Berl.) **4**, 299 (1927). — PFEFFER, W.: Unters. bot. Inst. Tübingen **2**, 179 (1886). — RABIGER, F. H.: Planta (Berl.) **40**, 121 (1951). — RIED, W.: Angew. Chem. **64**, 391 (1952). — ROMEIS: Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 9.—10. Aufl. RUGE, U.: Planta (Berl.) **35**, 297 (1947). — RUHLAND, W.: Jb. wiss. Bot. **46**, 1 (1908); **51**, 376 (1912); **54**, 391 (1914). — Ber. dtsch. bot. Ges. **26a**, 772 (1908); **31**, 304 (1913). — Z. Bot. **1**, 747 (1909). — RUHLAND, W., u. K. RAMSHORN: Planta (Berl.) **28**, 471 (1938). — SCHAEDE, R.: Ber. dtsch. bot. Ges. **41**, 345 (1923). — SCHNEIDER, W. C.: J. of Biol. Chem. **165**, 585 (1946). — SCHÖNFELDER, S.: Planta (Berl.) **12**, 414 (1930). — SCHÖNLEBER, K.: Z. Mikrosk. **53**, 303 (1936). — SCHULTZ, G.: Farbstofftabellen, 7. Aufl. Leipzig 1931. — SCHUMACHER, W.: Jb. wiss. Bot. **90**, 530 (1942). — STICH, H.: Naturwiss. **38**, 435 (1951). — STRUGGER, S.: Planta (Berl.) **18**, 561 (1932). — Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1935. — Jena. Z. Naturwiss. **73**, 97 (1940). — Dtsch. tierärztl. Wschr. **1940**, 645. — Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover 1949. — WAGNER-JAUREGG, TH.: Z. physiol. Chem. **239**, 188 (1936). — Naturwiss. **31**, 335 (1943). — ZEIGER, K., H. HARDERS u. W. MÜLLER: Protoplasma (Berl.) **40**, 76 (1951).

Dr. AUGUSTIN BETZ,
Bonn, Botan. Institut der Universität, Meckenheimer Allee 170.

Planta, Bd. 41, S. 358—390 (1953).

Aus dem Max Planck-Institut für Silikatforschung, Zweigstelle Berlin-Dahlem (Leitung: Dr. L. Holzapfel).

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE KIESELSÄURE-VERBINDUNGEN IM ROGGENHALM.

Von

Werner Engel.

Mit 4 Textabbildungen (in 11 Einzeldarstellungen).

(Eingegangen am 8. September 1952.)

Einleitung.

Die Anwesenheit der Kieselsäure in der Asche fast aller tierischer und pflanzlicher Gewebe und Gewebesäfte ist, wenn auch in wechselnden Mengenverhältnissen, seit langem bekannt (56), (50), (30).

Über die Lebensnotwendigkeit der Kieselsäure für den Organismus ist man dagegen noch heute geteilter Meinung. So schreibt Lehnartz (32) noch 1948 in seiner Abhandlung über die chemischen Voraussetzungen des Lebens: „Über die biologische Bedeutung des Siliziums ist nichts Sicheres bekannt." An anderer Stelle erwähnt er aber unter Bioelementen, die eine größere Verbreitung haben und denen eine „besondere funktionelle Bedeutung" zukommt, auch das Silizium.

Für die Nichtlebensnotwendigkeit des Siliziums wurde bisher unter anderem geltend gemacht, daß manche Pflanzen dieses Element nur in Spuren enthalten, es aber unter veränderten Standortbedingungen in weit größerer Menge aufnehmen können. Da die Pflanze nicht die Möglichkeit besitzt, die Kieselsäure bei überreichem Angebot wie der tierische Organismus (28) wieder leicht auszuscheiden, ist sie gezwungen, sie größtenteils im Zellgewebe einzubauen oder abzulagern. Die Ablagerungsformen zeigen aber verschiedenen morphologischen und wahrscheinlich auch physiologischen Charakter, unabhängig von der Kieselsäuremenge, die im Organismus in löslicher Transportform zirkuliert. So unterschieden Kahan und Antoine (24) auf Grund röntgenographischer Untersuchungen in als kieselsäurereich bekannten pflanzlichen Objekten zwischen kristallisierten, mineralischen Si-Massen, die zu Fremdkörpern der Gewebe geworden sind und den Si-Gallerten in den Geweben, die als konstitutioneller Anteil des Zellstroma oder dem interzellularen Zellsaft als am Stoffwechsel der lebenden Zellen beteiligte Komponenten angehören. In den zu Fremdkörpern gewordenen Si-Ausscheidungen liegen noch organische Komponenten vor, worauf Holzapfel (17) bei Tabaschir, einem Kieselgel, aufmerksam machte.

Gewisse Hinweise der Pflanzenphysiologen über die funktionelle Bedeutung der Kieselsäure bei der Nahrungsaufnahme aus dem Boden, über ihre Einwirkung auf das Wachstum und die Ertragssteigerung bei gewissen Kulturpflanzen liegen in einer Reihe von Arbeiten vor. Erstmalig berichten Kreuzhage und Wolf (29) 1884 eindeutig von günstigem Einfluß löslicher Silikate auf den Ertrag des Hafers. Rautenberger und Kühn (48) kommen zu gleichsinnigen Befunden. Ihre Folgerungen können allerdings kaum als Beweis für die Notwendigkeit des Siliziums zu normalem Pflanzenwachstum angeführt werden, da hier Mangelpflanzen und Kontrollen in unterschiedlicher Nährlösung wuchsen. Gegenüber diesen ersten Befunden an Pflanzen in Wasserkulturen wurden seit den Veröffentlichungen von

Hall und Morrison (15), die in Feldversuchen durch Zugabe von Natriumsilikat Mehrerträge bei Gerste erreichten, auch natürliche Böden für Si-Versuche verwendet. Mit dieser Ausweitung der Versuchsgrundlage unter dem Gesichtswinkel der Düngungsfragen wird aber die Frage der pflanzenphysiologischen Bedeutung stark zurückgedrängt. Insbesondere seit aus den Arbeiten von Lemmermann und Wiessmann (33) die ertragssteigernde Wirkung einer zusätzlichen Kieselsäuredüngung bei mangelhafter Versorgung des Bodens mit Phosphorsäure bekannt ist, beschäftigt sich die Mehrzahl der Autoren mit der agrikulturchemischen Seite des Kieselsäureproblems. Die meisten Autoren (13) sehen mit Lemmermann und Wiessmann in der aufschließenden Wirkung einer Kieselsäuregabe auf die Boden- und Düngerphosphorsäure den Hauptgrund für die Ertragssteigerungen, wenn sie auch die Mitwirkung anderer Faktoren nicht verneinen. So konnte Gericke (12a) in neueren Arbeiten zeigen, daß die Löslichkeitsgeschwindigkeit der Phosphorsäure in basischen Glühphosphaten (Thomasphosphat) mit zunehmendem Fluorgehalt durch Bildung von Fluorapatit abnimmt, ein hoher SiO_2-Gehalt aber die Bildung dieser schwerlöslichen Apatitformen im Boden verhindert oder verlangsamt und damit die Löslichkeit der Phosphorsäure wesentlich steigern kann. Duchon (7), Weihe (58) und Wöhlbier (61) führen die erhöhten Erntegewichte ausschließlich auf eine physikalische Verbesserung der Böden durch Kieselsäure zurück.

Goy (14), Mitscherlich (39), Pfeifer (45), Fleischer (10), Blanchard und Chaussin (4), Achromeko (1) und Ishibaski (21), die ebenfalls von stärkster Ertragssteigerung bei gleichzeitigem P-Mangel im Boden berichten, halten einen teilweisen Ersatz der Phosphorsäure durch Kieselsäure für möglich. Versuche, wie diese, bei denen natürliche Böden bzw. Sand als Vegetationsmedien dienten, können eine Entscheidung über die absolute Entbehrlichkeit der Kieselsäure für das Pflanzenwachstum nicht bringen, da bei ihnen naturgemäß keine völlige Ausschaltung des Siliziums möglich ist. Seit den Wasserkulturversuchen von Boresch und Sachse (5), Jennings (23), Stoklasa (55), Sommer (54), Scharrer und Schropp (51), in denen nach Kieselsäurezugabe Ertragssteigerungen auftraten, benutzen viele Pflanzenphysiologen den Begriff der „kolloiden" Kieselsäure, sprechen von Kolloidwirkung der Kieselsäure auf einzelne Nährlösungskomponenten oder der Zellen der Pflanzenwurzel und glauben in dieser Eigenschaft der Kieselsäure den Grund für den günstigen Einfluß der SiO_2-Gaben zu sehen [Butkewitsch (6), Mengdehl (35), Lundegärdh (34), Wagner (57)], ohne aber eine nähere Definition oder experimentelle Unterlagen für ihre Vorstellung dieser Zustandsform der Kieselsäure und ihrer Reaktionseigenschaften zu geben.

In diesem Zusammenhang soll auf eine Beobachtung von Ferrari (9) hingewiesen werden, der glaubt, mit Hilfe des gefärbten Si-Molybdänkomplexes eine Umwandlung der Bodensilikate in der Nähe von Wurzelhaaren in eine dialysable Form nachgewiesen zu haben. Damit ist aber über den Zustand der löslichen Kieselsäureform wenig ausgesagt.

Weiter berichtet Mieth (38) von besonderem Wachstum in Si-haltiger Nährlösung. Als Kalksalze verwendet er $CaCl_2$. Wird es in der Nährlösung durch Calciumsilikat ersetzt, so treten Ertragssteigerungen auf, die der Autor auf das befriedigte Kieselsäurebedürfnis der Pflanzen zurückführt. Da p_H-Wertkontrollen fehlen, muß hier zweifelhaft bleiben, inwieweit das gesteigerte Wachstum der Calciumsilikatserie gegenüber der $CaCl_2$-Serie in der unterschiedlichen Einwirkung der beiden Kalkformen auf die Reaktion der Nährlösung beruht. Erinnert sei hier an die recht eingehenden Versuche von Mengdehl (35) über den Einfluß der Kieselsäure auf die Ionenaufnahme von Nährsalzen bei Aspergillus niger in Abhängigkeit vom p_H-Wert.

Die gleichen Bedenken sind gegen die Untersuchungen von RICHTER (49) geltend zu machen. Er stellte ebenfalls eine günstige Wirkung von Calciumsilikat auf das Wachstum von Reis fest. Auch in diesen Versuchen scheint der Faktor Kieselsäure nicht genügend isoliert, um eine einwandfreie Deutung der Versuchsergebnisse zu ermöglichen.

Unter Ausschaltung einer Reihe dieser Fehlerquellen konnte WAGNER (57) in sehr sorgfältigen Versuchen in Wasserkulturen mit Gramineen (Mais, Hafer, Gerste, Reis) sowie bei Gurke, Tomate, Buschbohne, Tabak nachweisen, daß Si-Mangel innerhalb der Pflanze zu einer abnormalen Anhäufung von Mineralbestandteilen (Ca, P, K, Mg) und zu einer beträchtlichen Wachstumsdepression führt, eine größere Empfindlichkeit gegen Auswinterung und Mehltaubefall zeigt. Die Höhe des Mehltaubefalls bei Gerste steht nach seinen Angaben in direkter Abhängigkeit vom wechselnden SiO_2-Gehalt der Böden. Über eine geringere Resistenz und eine krankhafte braune Fleckung der Blätter, die keiner Infektion zuzuschreiben war, bei Si-Mangel berichten OKAWA und TANAKA (42) an Gerste und Reis, die ISHIBASKI (21) bei ähnlichen Versuchen mit Reis bestätigt fand. Über ein weiteres Merkmal für Wachstumsstörungen bei Si-Mangel berichtet RALEIGH (47), der als erstes Anzeichen bei der Rübe das Welken der älteren Blätter anführt. Auf den Blättern entlang der Nervenbahnen wurden Verfärbungen durch Anthocyanbildung beobachtet.

Man kann auf Grund des zahlreich vorliegenden Versuchsmaterials daher wohl heute bereits mit Sicherheit annehmen, daß ein Si-Mangel zu einer gewissen Anfälligkeit der Pflanze sowie zu krankhaften Veränderungen ihrer Organe führt. Weiterhin zeigen die vielen Düngungsversuche, daß Si-Mangel durch Phosphorsäure gedeckt werden kann, allerdings wird dadurch der Phosphorsäurebedarf zum Teil bis auf das Vierfache gesteigert (20). Andererseits kann wahrscheinlich die Kieselsäure die Phosphorsäure aber auch die Schwefelsäure ersetzen, wie OKAWA und TANAKA (42) an SO_4-frei ernährten Gerstenpflanzen durch Gaben von Calciumsilikat feststellten.

Einen klaren Beweis für die lebensnotwendige Bedeutung der Kieselsäure können aber alle diese Versuche nicht geben, da bis in die heutige Zeit keine eindeutigen Ergebnisse über ganz kieselsäurefrei gezüchtete Pflanzenkulturen vorliegen, da ein Si-freies Wachstumsmilieu sehr schwierig zu erreichen ist, und geringste Mengen Kieselsäure bereits ein normales Wachstum bewirken können, wie aus den MENGDEHLschen Versuchen hervorgeht, andererseits Schutzschichten aus Paraffin, wie sie WAGNER (57) für seine sonst recht genauen Si-Mangelversuche mit Kulturpflanzen verwendet und die wie oben erwähnt, bei Si-Mangel klare Wachstumsdepressionen ergeben, einen wachstumshemmenden Einfluß durch die Paraffinschutzschicht wahrscheinlich machen können.

Gewisse Anhaltspunkte über den Einbau der Kieselsäure in die Primärlamelle und Sekundärschichten der Zellmembranen ergeben sich aus zahlreichen elektronenoptischen Untersuchungen von FREY-WYSSLING (11) und MÜHLETHALER (40) an den Zellmembranen verschiedener inkrustierter und nichtinkrustierter Gewebe, besonders im Phloem

und Xylem von Hölzern und stark zellulosehaltigen Stützgeweben, den Zellmembranen von Mais- und Haferkoleoptilen, an Chitinzellwänden von Phycomyces Blakesleeanus, an Wurzelhaaren usw. Viele Zellwände erleiden bekanntlich weitgehende Veränderungen entweder durch chemische Umwandlung der Membranstoffe oder durch Einlagerung von Komponenten, die zur Verholzung, Kutinisierung und Verkorkung, zur Versteifung des Gewebes durch Kieselsäureverbindungen und Ca-Salze führen. Alle diese Stoffe bezeichnet man zusammenfassend als Inkrusten, womit stillschweigend vorausgesetzt wird, daß es sich um Einlagerungen handelt. Nach Frey-Wyssling sind es intermizellare Substanzen, womit über ihre Natur allerdings wenig ausgesagt ist.

Wenn man bedenkt, daß die Zellmembranen bekanntlich ziemlich plötzlich verholzen, das Lignin also, wie es sich Wieler (59) vorstellt, in Form eines Niederschlages als Reaktionsprodukt zwischen in der Membran gelösten Vorstufen und eindringender Lösung ziemlich spontan in Form von Sphäriten in gallertigen Hüllen ausfällt, die veraschten Zellwände dieses Stadiums aber bereits ein gut ausgeprägtes Kieselsäureskelett zeigen, könnte man vermuten, daß die Kieselsäure, die nach Frey-Wyssling als Anteil der interzellulären Substanz die Zellwandstruktur durchsetzt, auch in einer wasserlöslichen Vorstufe angereichert für solche spontanen Reaktionen vorliegen muß. Erinnert sei hier auch an den Vorgang der Blattausschüttung bei vielen tropischen Laubbäumen, wo nach wenigen Tagen neben der Turgorwirkung der Zelle zur Blattentfaltung die Kieselsäure als Stützgewebesubstanz bereits vorliegt. Das Vorhandensein dieser gelösten Kieselsäurereserve in der Pflanze kann man sich aber nur in einer leicht wasserlöslichen Transportform und in Veresterung mit organischen Komponenten vorstellen.

Nun konnten Holzapfel und Mitarbeiter in den letzten 10 Jahren über eine Reihe von organischen Si-Verbindungen berichten, die teils synthetisch dargestellt, aber auch als physiologische Komponenten des Organismus aus tierischen und pflanzlichen Geweben extrahiert werden konnten und die es als gesichert erscheinen lassen, daß organische Si-Verbindungen im Organismus eine Rolle spielen. So war weiter darauf hingewiesen worden, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die Einlagerung der Kieselsäure als Gerüstsubstanz, sowie die wasserlösliche Transportform der Kieselsäure über OH-haltige organische Komponenten führt und besonders in der Pflanze mit zuckerartigen Verbindungen bevorzugt stabile Verbindungen eingeht. Holzapfel (20) hatte gezeigt, daß Elektrolysate von Extrakten von Equisetum arvense mit heißem Wasser an der Anode neben Si auch reduzierende, stickstofffreie Komponenten und zwar Zucker enthielten. Die Beobachtung war insofern wichtig, als freie Zucker eine gerichtete Wanderung im elektrischen Feld

normalerweise nicht besitzen. Eine Verunreinigung der auf der Anode niedergeschlagenen Si-Verbindungen durch Zuckeranteile des Equisetumextraktes war auszuschließen, da auf der Kathode kein Zucker nachzuweisen war und der Anodenbelag gegenüber dem Extrakt vollkommen N-frei war. Die Zuckeranteile mußten daher mit der auf der Anode niedergeschlagenen Kieselsäure in einem ursächlichen Zusammenhang stehen. Dieses Ergebnis diente als Ausgangspunkt für Versuche,

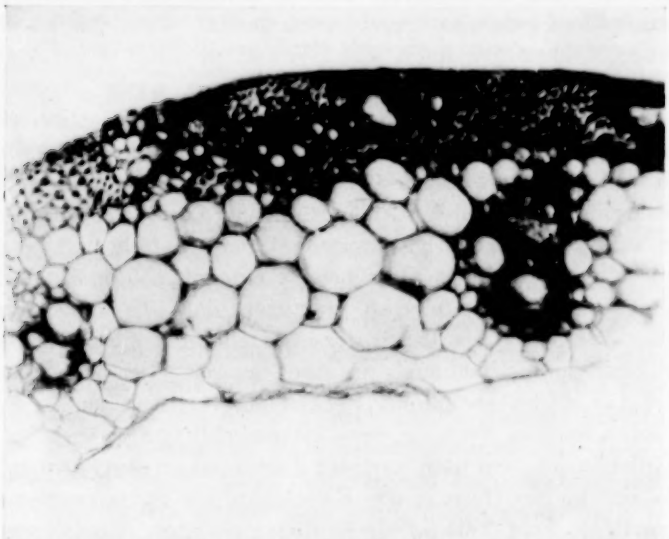


Abb. 1a. Querschnitt durch mit heißem Wasser extrahierte Roggenhalmwand. Gefrierschnitt 25 μ. Vergr. 120fach, auf 360fach nachvergrößert.

solche Kieselsäureverbindungen mit organischen Gruppen aus stark Si-haltigem Pflanzenmaterial zu isolieren, unter möglichst quantitativen Bedingungen die Zusammensetzung und Eigenschaften dieser Si-Verbindungen zu studieren. Hierbei bestand die Möglichkeit, einen Einblick in die physiologische Wirkungsweise der Kieselsäure im Pflanzenorganismus zu erhalten und im Hinblick auf die ertragssteigernde Wirkung bei Kulturpflanzen durch zusätzliche Kieselsäuredüngung eine Klärung herbeizuführen.

Experimenteller Teil.

Als Untersuchungsmaterial wurde der Halm vom Roggen (Secale cereale) gewählt, der nach der Literatur (25) mit ungefähr 4,4% Asche-anteilen, die zu 49,2% aus SiO_2 bestehen, als kieselsäurereich bekannt ist. Die Kieselsäure wird hier, wie veraschte Quer- und Längsschnitte durch die mit heißem Wasser extrahierte Roggenhalmwand zeigen

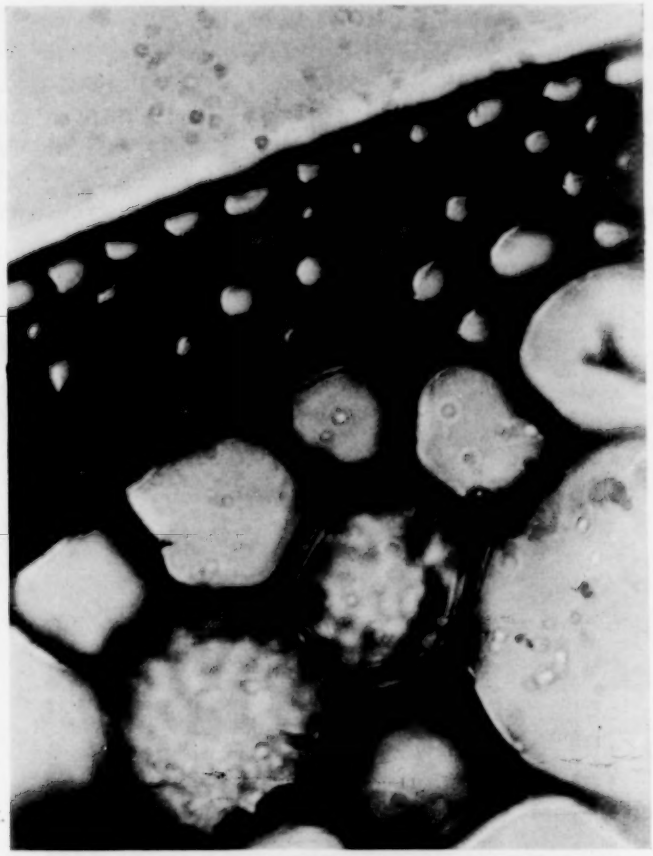


Abb. 1b. Querschnitt durch Roggenhalmwand, behandelt wie Abb. 1a. Vergr. 400fach, auf 1200fach nachvergrößert.

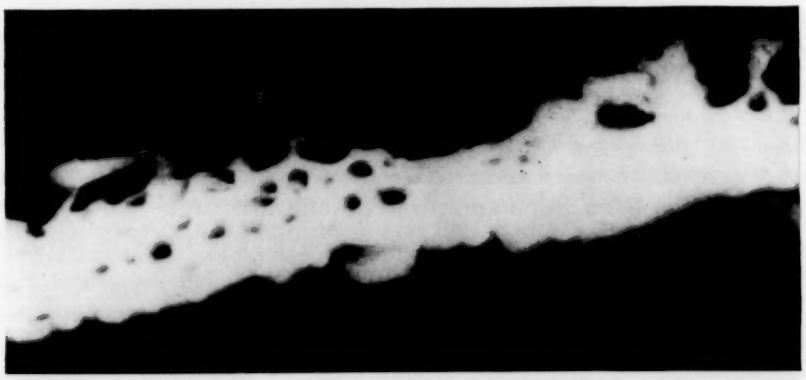


Abb. 1c. Veraschter Schnitt von Abb. 1b, links im Bild Reste eines Gefäßbündelstranges. Über das ganze Bild nach unten erstreckte sich vor der Veraschung das Parenchymgewebe, das hier kein Skelet hinterläßt. Die Analyse dieser veraschten Schnitte ergab reine Kieselsäure mit Spuren von Calcium. Vergr. 400fach, auf 1200fach nachvergrößert.

(die erhaltenen Kieselsäureskelete bestanden fast aus reiner Kieselsäure mit Spuren von Ca, Abb. 1c und e), vorwiegend im peripheren, subepidermalen Stützgewebe, das stark inkrustierte Zellwände und Interzellularräume aufweist, in den Gefäßbündelsträngen und in der Zellwand der einschichtigen Epidermis abgelagert. Besonders im veraschten Längstangentialschnitt ist die etwas geschrumpfte, aber sonst als Kieselsäureskelet vollkommen erhaltene Zellwandstruktur der

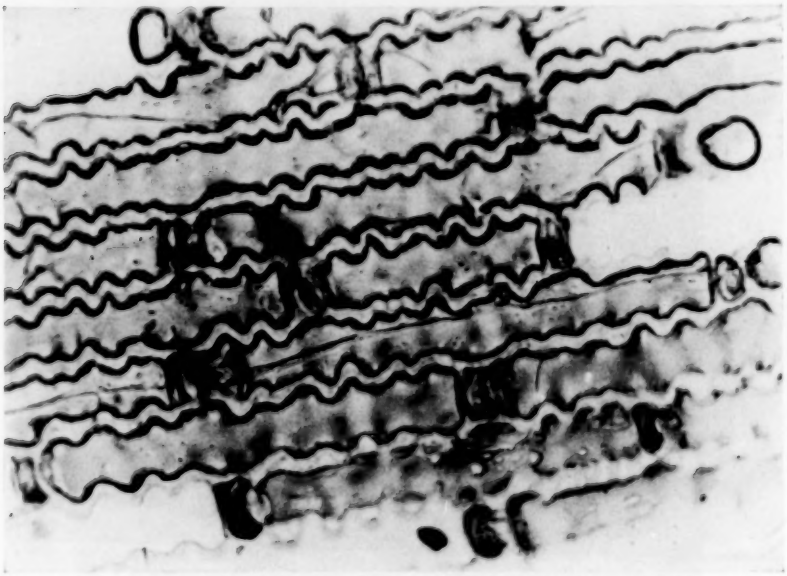


Abb. 1d. Längstangentialschnitt durch die wie Abb. 1a behandelte Roggenhalmwandepidermis an den Versteifungsleisten. Vergr. 500fach, auf 1500fach nachvergrößert.

Epidermis deutlich zu erkennen (Abb. 1d und e). Trotz Abwesenheit jeglicher Alkalien und organischer Reste zeigte das Kieselsäureskelet nach 6stündiger Veraschung bei 550° (bei 1200facher Vergrößerung) eine etwas glasige Struktur (Abb. 1c), die bei mehrstündigem, stärkerem Glühen bei 800—900° in ein amorphes Pulver zerfällt, wobei die morphologische Struktur des veraschten Zellgewebes fast ganz verloren geht. Aus den veraschten Schnittpräparaten kann man weiterhin erkennen, daß die Zellwände des lockeren Parenchymgewebes kein Si-Skelet hinterlassen.

Da es nicht gelang, mit Hilfe mikrochemischer Methoden, noch durch die Veraschung Anhaltspunkte über den Bindungszustand der wahrscheinlich in gelartigem Zustand in der Zellwand vorliegenden Kieselsäure zu den organischen Strukturelementen zu erhalten, wurde versucht, mit eluierenden Lösungsmitteln aus diesen hochmolekularen

Zellwandbestandteilen gewisse niedermolekulare, Si-haltige Bruchstücke zu isolieren und über ihre Zugehörigkeit Aussagen zu machen.

Ausgangsmaterial.

Als Ausgangsmaterial wurde abgelagertes Stroh vom Winterroggen, Erntejahr 1950, von der Domäne Dahlem und für ergänzende Versuche vor der Blüte

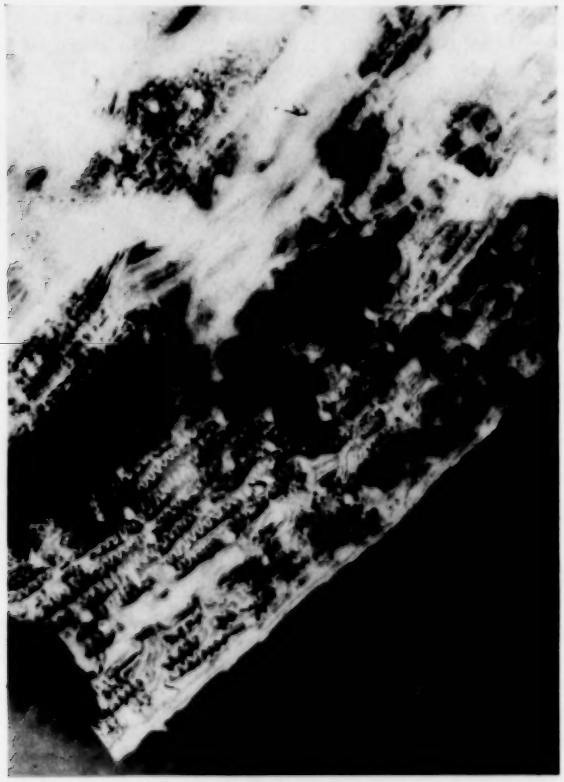


Abb. 1e. Gleicher Schnitt wie Abb. 1d verascht. Vergr. 400fach, auf 1200fach nachvergrößert.

stehender Petkuser Sommerroggen vom Institut für Acker- und Pflanzenbau, Dahlem, Jahrgang 1951, verwendet. Das Frischmaterial vom Sommerroggen wurde nach der Entnahme vom Versuchsfeld vor einer Behandlung sofort im Vakuum bei 40° getrocknet. Durch trockenes Bürsten und mehrmaliges Spülen in kaltem Aqua dest. wurde dann jedes Strohmaterial von Staub und Sand gereinigt, getrocknet und in 0,5—1 mm lange Halmstücke unter Ausscheidung der Knoten zerschnitten, bei 40° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und in Chargen von 30—100 g aufgeteilt. Zur Verarbeitung gelangten nur die mittleren Internodien des Halmes, da nach Genère (12) der SiO_2-Gehalt von den unteren zu den oberen Internodien des Getreidehalms zunimmt. Eine Prüfung auf noch anhaftende Sandbestandteile des vorbehandelten Halmes durch einstündiges Schütteln in Aqua dest. ergab einen Bodensatz von durchschnittlich 0,011%

unlösliches SiO_2, das bei der Auswertung der Versuchsergebnisse berücksichtigt wurde. Für die Extraktionen wurden Duranglasapparaturen verwendet, die in Blindversuchen nur bei Verwendung alkalischer Lösungsmittel nachweisbare Si-Mengen abgaben. Trotzdem wurde bei jedem Extraktionsgang der Si-Blindwert ermittelt.

Analytische Methoden.

Von den eingehend geprüften und diskutierten Kieselsäure-Bestimmungsmethoden ergab in diesem Fall die bekannte gravimetrische Methode, nach der das veraschte Material (nicht unter 10 mg) mehrmals mit konz. HCl eingedampft, gut gewaschen und der SiO_2-Anteil durch Abrauchen mit HF bestimmt wurde, die zuverlässigsten Werte, wobei aber die verwendeten Reagenzien laufend auf ihren SiO_2-Gehalt überwacht wurden.

Die Phosphorsäure wurde aus dem salzsauren Auszug der Asche nach Ausfällung der Kieselsäure als P_2O_5 nach der Mikromethode nach PREGL (46), das Calcium an der gleichen Stelle nach der bekannten Ammoniumoxalatmethode bestimmt. Der Reduktionswert der Extrakte wurde nach Mikro-Bertrand (36) erhalten, während die freien Zuckeranteile mit Phenylhydrazinchlorhydrat in ungefähr 12fachem Überschuß nach KNECHT und HIBBERT (26) gefällt und ihre Smpp. im Mikroschmelzpunktsgerät nach KOFLER (27) erhalten wurden. Die Auftrennung von Zucker-Mischosazonen erfolgte auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit durch Umkristallisation. Über die Anwendung weiterer analytischer Methoden wird bei den einzelnen Versuchen berichtet werden.

Vorversuche zur Eluierung von Si-Komponenten aus der Roggenhalmwand.

Proben von ausgereiftem, abgelagertem Roggenstroh wurden anfangs mit methanolhaltiger NaOH (Methanolanteil 10%) verschiedener Konzentration, einem Lösungsmittel, das sich in früheren Versuchen beim Aufschluß Si-haltiger Naturstoffe besonders bewährt hatte, am Rück-

Tabelle 1 (Vorversuch). *Verteilung der Si-Komponenten nach Extraktion mit methanolhaltiger NaOH.*

Material: ausgereiftes Stroh vom Winterroggen. Versuch 1: 3mal 6 Std mit methanolhaltigem 3%igem NaOH extrahiert. Versuch 2: 3mal 6 Std mit methanolhaltigem 5%igem NaOH extrahiert.

Ausgangsmaterial	Versuch Nr.	Trockengewicht g	Aschegehalt g	Aschegehalt %	Aschegehalt %-Gehalt vom Ausgangsmaterial	SiO_2-Gehalt in der Asche g	SiO_2-Gehalt in der Asche %	SiO_2-Gehalt vom Ausgangsmaterial %
Strohausgangsmaterial	1 (3%NaOH)	53,01	2,142	4,04	4,04	0,886	41,3	1,67
	2 (5%NaOH)	35,00	1,407	4,02	4,02	0,588	41,8	1,68
Strohrückstand nach Extraktion	1 (3%NaOH)	45,13	0,410	0,91	0,72	0,235	57,4	0,52
	2 (5%NaOH)	27,89	0,140	0,50	0,4	0,089	63,5	0,32
Extraktionsrückstand	1 (3%NaOH)	7,52	1,776	23,6	3,35	0,647	35,8	1,22
	2 (5%NaOH)	7,01	1,314	18,7	3,78	0,525	39,9	1,50
SiO_2-Blindwert aus der Glasapparatur	1 (3%NaOH)	—	0,044	—	0,08	0,040	—	0,075
	2 (5%NaOH)	—	0,063	—	0,18	0,056	—	0,16

flußkühler erschöpfend extrahiert und der Asche-Kieselsäuregehalt des extrahierten Strohmaterials und des Extraktes geprüft. Eine quantitative Erfassung der Versuchsergebnisse war erst möglich, nachdem die nach Neutralisation mit HCl anfallenden NaCl-Mengen nach langwieriger, tagelanger Dialyse durch Kollodiumfilter aus den Extrakten entfernt waren und die Strohrückstände von NaOH-Resten befreit waren.

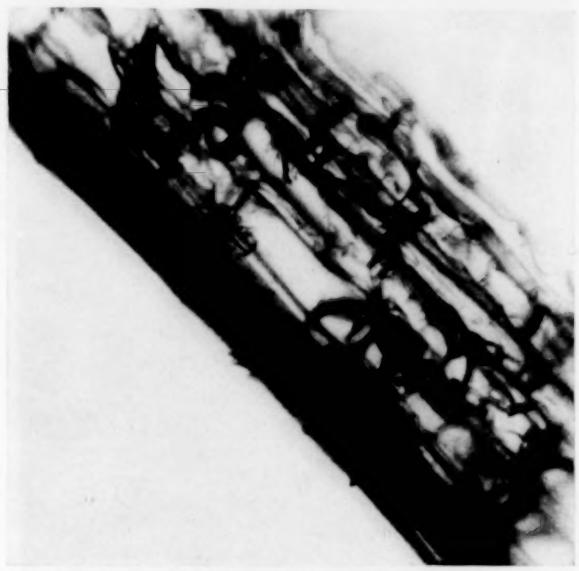


Abb. 2a. Längsschnitt durch unbehandelte Roggenhalmwand, Durchlichtaufnahme. Vergr. etwa 600fach.

Diese Vorversuche hatten den Zweck, festzustellen, mit welchen Lösungsmitteln ein möglichst hoher Anteil von Si-Verbindungen aus der Roggenhalmwand in Lösung gebracht werden konnte und ob nach ihrem Herauslösen Strukturveränderungen der inkrustierten Zellwände festzustellen waren.

Die mikroskopische Untersuchung des behandelten Materials ergab keine Anhaltspunkte. Die aus dem behandelten, getrockneten Material hergestellten Schnitte zeigten noch die fast unveränderten Zellwände. Im subepidermalen Stützgewebe, besonders nach der Behandlung mit 5%iger NaOH war eine Aufquellung der Wandsubstanzen zu beobachten. Anhaltspunkte für „Leerstellen" der herausgelösten Si-Komponenten oder Ausfällung von Kieselsäure in den Stützsubstanzen waren aber trotz der in diesem Material noch nachweisbaren Kieselsäure nicht zu erkennen.

Über die Löslichkeit der Si-Anteile aus der Halmwand gibt Tabelle 1 Auskunft. Hiernach ging der größte Teil der Kieselsäure je nach der Konzentration der NaOH in den Extrakt. Bei 5%iger NaOH wurden von der im Strohausgangsmaterial vorliegenden Kieselsäuremenge 81%, bei 3%iger NaOH nur 68% gelöst. Während die löslichen SiO_2-*Anteile*, aber auch die löslichen organischen Mengen bei höherer NaOH-Konzen-

Abb. 2 b. Längsschnitt durch mit 5%iger NaOH heiß extrahierte Roggenhalmwand. Auflichtaufnahme. Vergr. etwa 600fach.

tration anstiegen, ging der prozentuale Ascheanteil der löslichen Substanzen zurück, d. h. bei höherer NaOH-Konzentration wurden gleichzeitig im Verhältnis mehr organische Anteile, wahrscheinlich mehr stabile hochpolymere Kohlehydratkomponenten abgebaut und damit gelöst.

Bei Fortführung dieser Extraktionsgänge nähert sich die lösliche SiO_2-Menge einem Grenzwert, d. h. ein Kieselsäureanteil von ungefähr 18% der im Strohausgangsmaterial vorliegenden SiO_2-Menge war nach mehrmaliger Wiederholung der Extraktion auch nach Zusatz von H_2O_2 unter langsamer Zerstörung und Auflösung der Zellwandstruktur aus dem sich bildenden Zellstoffmaterial nicht mehr zu entfernen.

Eine ähnliche Beobachtung machten JAYME und SCHENCK (22) über den Kieselsäuregehalt von auf alkalischem Wege hergestellten pentosanarmen Strohzellstoffen, aus denen trotz zahlreicher Variationen der Aufschlußverfahren die

Tabelle 2. *Abnahme des SiO_2-Rückstandes im Strohmaterial nach den einzelnen Extraktionsgängen.*

Ausgangsmenge: je 20 g Strohmaterial vom Winterroggen. Menge an Lösungsmittel: je 250 cm³.

Art der Extraktion	Versuch 1 SiO_2-Rückstand %	Versuch 2 SiO_2-Rückstand %	Bemerkungen
Unbehandeltes Strohausgangsmaterial	1,67	1,68	
3mal 6 Std mit methanolhaltiger 3%iger NaOH heiß extrahiert . .	0,52	0,54	
5mal 6 Std mit methanolhaltiger 3% NaOH heiß behandelt	0,35	0,32	Beginnende Auflösung der Zellwandstruktur
6mal 6 Std mit methanolhaltiger 3%iger NaOH + 10 cm³ Perhydrol heiß extrahiert	0,33	0,31	Partielle Auflösung der Zellwandstruktur
3mal 6 Std mit methanolhaltiger 5%iger NaOH heiß extrahiert . . .	0,32	0,35	
6mal 6 Std mit methanolhaltiger 5%iger NaOH heiß behandelt . . .	0,31	0,32	Beginnende Auflösung der Zellwandstruktur
6mal 6 Std mit methanolhaltiger 5%iger NaOH + 10 cm³ Perhydrol heiß extrahiert	0,32	0,30	Starke Auflösung der Zellwandstruktur

letzten störenden Anteile der Kieselsäure von 0,4—0,5% ohne tragbares Absinken der Viskosität und Ausbeute nicht entfernt werden konnten. Diese Strohzellstoffe bestanden fast aus reiner α-Cellulose (94%). Bereits von HOLZAPFEL (17) wurde darauf hingewiesen, daß LADENBURG bei Cellulose von einem bestimmten Anteil Kieselsäure in organischer Bindung spricht und LANGE feststellte, daß die in der Cellulose eingebaute Kieselsäure, wie er annahm, in Form von Kieselsäurehydrat vorliegt.

Das Veraschen der extrahierten und gut gewässerten Strohrückstände (s. Tabelle 1, Versuch 2) ergab im mikroskopischen Bild ein Kieselsäureskelet, das noch ziemlich klar den strukturellen Aufbau der ursprünglichen Zellwand wiedergab.

Wurde dieses Material aber vor dem Veraschen mit Cuproxam behandelt, so löste es sich vollständig auf und ergab nach Wiederausfällung der Cellulose durch Ansäuern nach dem Veraschen einen strukturlosen, fast amorphen Kieselsäurerückstand.

Der Versuch zeigt, daß die in methanolhaltiger NaOH nicht lösliche Si-Menge an eine unlösliche Zellwandkomponente sehr fest gebunden sein mußte, die fast aus reiner Gerüstzellulose bestand.

Analytische Untersuchungen der Si-haltigen Extrakte.

Ein weiterer Schritt galt der Untersuchung der mit der Kieselsäure aus der Halmwand gelösten anderen Bestandteile, besonders der organischen Komponenten, von denen die Kohlenhydrate nach unseren früheren Beobachtungen bevorzugt als primäre Reaktionspartner der Kieselsäure angesehen werden können.

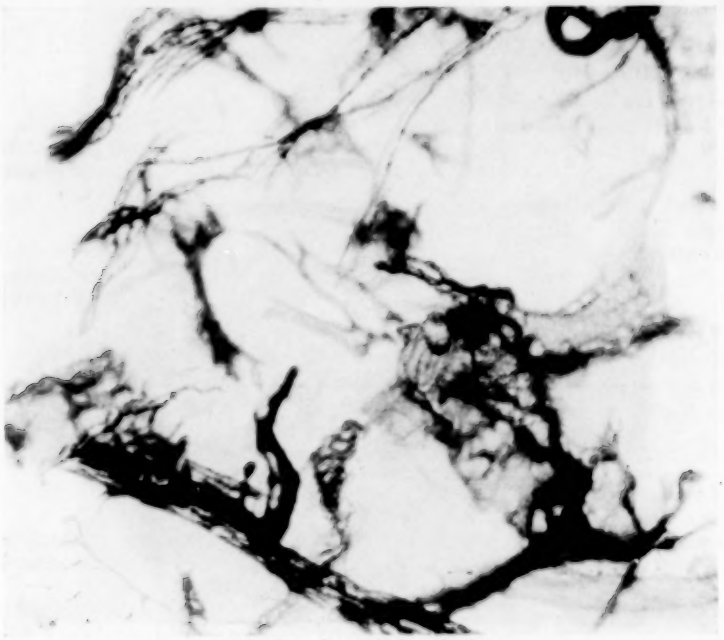


Abb. 3a. Durchlichtaufnahme.

Um eine bessere Aufteilung der in Lösung gehenden Zellwandkomponenten zu erhalten, wurde das Strohausgangsmaterial zuerst erschöpfend mit Methanol im Soxhlet und anschließend mit 5%iger NaOH am Rückflußkühler behandelt (s. Tabelle 3). Aus einer gut übereinstimmenden Doppelserie dieser Versuche ergab sich folgendes Bild. Von den im Ausgangsmaterial vorliegenden Si-haltigen Komponenten wurden durch Methanol von der gesamtlöslichen SiO_2-Menge (in Form methanollöslicher Verbindungen) 20—22% gelöst[1]. Der gesamtlösliche

[1] Wie aus den auf S. 377 mitgeteilten Extraktionsversuchen mit gleichem Ausgangsmaterial hervorgeht, sind diese Si-Verbindungen in einem Methanol-Benzolgemisch (1 : 3) nicht mehr löslich. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird die Methanollöslichkeit dieser Si-Verbindungen hauptsächlich durch die Anwesenheit freier OH-Gruppen bewirkt, die in dem Methanol-Benzolgemisch infolge des Überwiegens des Benzolanteils nicht mehr wirksam werden.

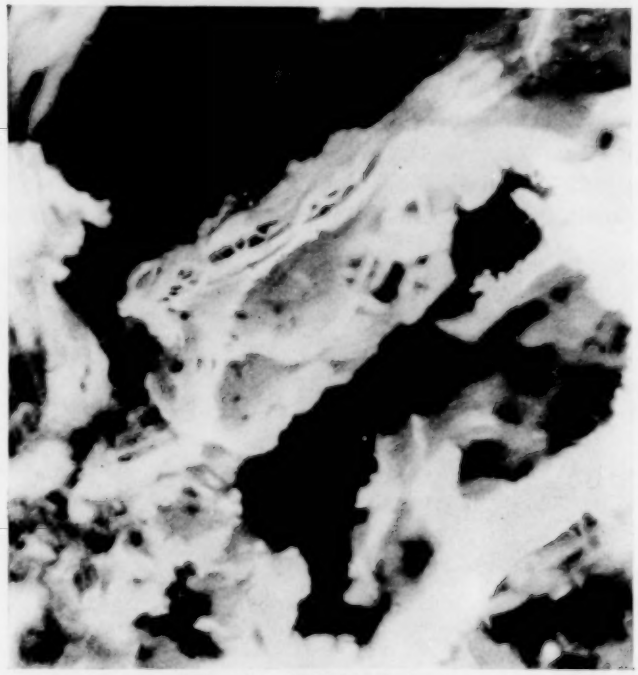


Abb. 3 b. Auflichtaufnahme.

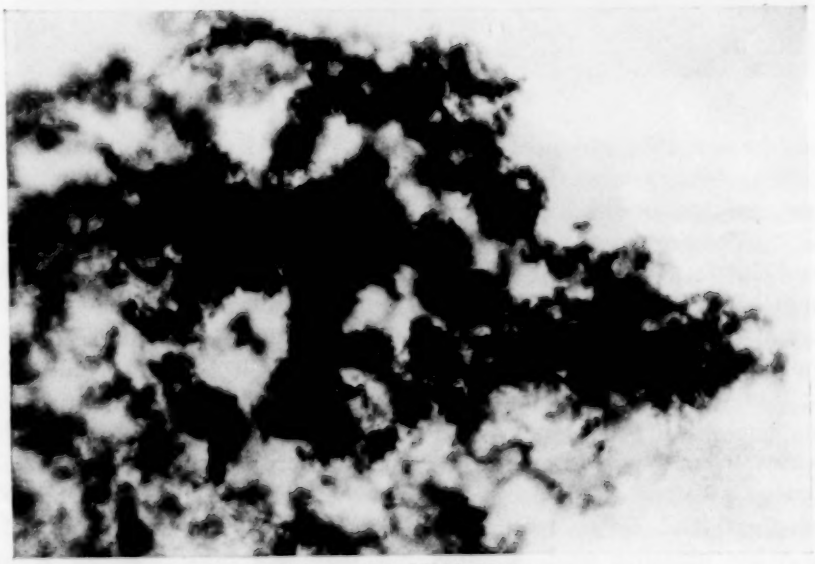


Abb. 4 a. Durchlichtaufnahme.

SiO_2-Anteil betrug ungefähr 75%, der im Strohrückstand verbleibende unlösliche Anteil ungefähr 19%.

Im Methanolextrakt war nach kurzfristiger Verseifung mit 2%iger NaOH (Einwirkungsdauer 30 min) bei 20° C mit Hilfe der Phenylhydrazinreaktion eine geringe Zuckermenge nachzuweisen, die auf Grund ihrer Smpp. von 168°, 189—190° und 204—206° ein Zuckergemisch erkennen ließ. Der gegenüber der gefundenen Zuckermenge erhaltene höhere Reduktionswert nach Mikro-Bertrand kann auf die mit 8,93%

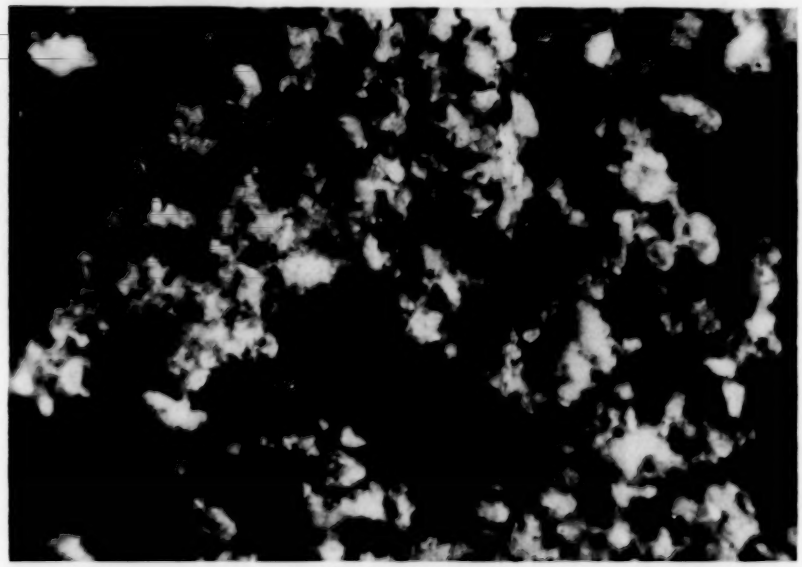


Abb. 4 b. Auflichtaufnahme.

berechneten Rohproteinanteile oder auf andere Zuckerabbauprodukte zurückgeführt werden. Im NaOH-Extrakt konnte dagegen kein Zucker nachgewiesen werden, was auf die hydrolytische Wirkung der NaOH bei Siedetemperatur zurückgeführt werden kann. Von Wichtigkeit erscheint ferner die Beobachtung, daß der erhaltene Methanolextrakt auch beim Einengen vollkommen klar blieb, während die im NaOH-Extrakt enthaltene Kieselsäure sich als unlöslicher Bodensatz absetzte. Auf diese Beobachtung kommen wir in späteren Versuchen zurück.

Von wesentlicher Bedeutung war weiterhin die Beobachtung, daß aus dem vollständig klaren, frisch hergestellten Methanolextrakt durch Schütteln mit wasserfreiem Äther im Scheidetrichter bei 20° C ein Auszug erhalten werden konnte, der eine lösliche Kieselsäureverbindung enthielt. Da anorganische Kieselsäureverbindungen bekanntlich in Äther unlöslich sind, konnten nur beteiligte organische Gruppen die Löslichkeit bewirkt haben.

Die analytische Untersuchung des Si-haltigen Ätherextraktes ergab einen Ascheanteil von 7,5%, der zu 37,1% aus SiO_2 bestand und in dem sonst an anorganischen Bestandteilen nur Phosphorsäure nachgewiesen werden konnte. Aus dem hohen Anteil an organischen Komponenten konnten 4,09% Zucker, 8,14% verseifbare Fette, 2,18% freie Fettsäuren[1] bestimmt werden. Die Jodzahl betrug 11.

Die Reaktion auf Phytosterine nach der Methode von PALASI (42) war positiv, erlaubte aber nicht die Angabe quantitativer Werte.

Die stoffliche Zusammensetzung dieses aus der kieselsäurereichen Halmwand erhaltenen Ätherextraktes zeigt eine auffallende Ähnlichkeit mit den von HOLZAPFEL und Mitarbeitern früher aus methanol-, äthanol- und ätherlöslichen Extrakten isolierten Si-Komplexen aus Staublungenmaterial (19).

Betrachtet man die im Ätherextrakt vorliegende Menge an Kieselsäure (36 mg) mit der des bestimmten Zuckers (53 mg) (Tabelle 3), so stellt man fest, daß Kieselsäure : Zucker im molaren Verhältnis von 2 : 1 stehen. Es könnte sich um eine Zufälligkeit handeln. Wie aber weitere Versuchsreihen auch unter anderen Extraktionsbedingungen zeigen werden, ergibt dieser ätherlösliche Si-Komplex ein reelles, in gewissen Grenzen konstantes Bindungsverhältnis von Zucker zu Kieselsäure. Daß der Zucker in diesem Komplex erst nach $^1/_2$stündiger Verseifung mit 2%iger NaOH bei 20° C nachzuweisen ist, kann man sich nur so erklären, daß der Zucker erst aus einer esterartigen Bindung mit der Kieselsäure in Freiheit gesetzt werden muß. Auch die auf der Quarz- und Asbestoberfläche adsorbierten Zucker können erst nach Behandlung mit 2—5%iger NaOH bei 20° C abgelöst, d. h. abgespalten werden (8). Längere Einwirkung heißer NaOH führt zur Zerstörung der Zuckerkomponenten.

Bei der hier vorliegenden Zuckerkomponente muß es sich um zwei verschiedene Zuckerarten handeln, da der erhaltene Phenylosazonniederschlag 2 Smpp. von 190° und 168° zeigte, die Orzinreaktion auf Pentosen nach BAIRENSCHEEN und VÀLIJI-NAGY (3) schwach positiv ausfiel. In Modellversuchen wurde festgestellt, daß es sich bei dem Osazon mit Smp. von 190° nur um Galaktose handeln konnte, während der Osazon-Smp. von 168° wahrscheinlich einer Pentose zukommt, da eine Bildung von Hydrazonen bei Anwesenheit freier Zucker bei dem großen Überschuß an Fällungsreagens nicht zu erwarten war. Eine quantitative Auftrennung der beiden Phenylosazone gelang uns hier nicht, da der Anteil mit dem Smp. 168° sehr klein war. Für eine Betrachtung eines molaren Kieselsäure-Zuckerverhältnisses wurde daher an dieser Stelle nur die Galaktose in Betracht gezogen. In diesem

[1] Die Bestimmung der freien Fettsäuren und verseifbaren Fette erfolgte nach der Mikromethode nach BANG. [Hierzu H. STAUB: Biochem. Z. **232**, 128 (1931).]

Tabelle 3. *Verteilung der Si-Komponenten nach Extraktion*
Ausgangsmaterial: gelagertes

Material	Trokkengewicht g	Aschegehalt g	Aschegehalt %	Aschegehalt %-Anteil vom Strohausgangsmaterial	SiO_2-Gehalt in der Asche g	SiO_2-Gehalt in der Asche %	SiO_2-Gehalt vom Strohausgangsmaterial %	Aus der Asche CaO g	Aus der Asche CaO %	Aus der Asche CaO %-Anteil vom Strohausgangsmaterial
Strohausgangsmaterial										
Versuch 1	69,00	2,797	—	4,05	1,152	41,2	1,67	0,232	0,336	0,336
Versuch 2	63,00	2,564	—	4,07	1,058	41,2	1,68	0,210	—	0,33
Methanolextrakt										
Versuch 1	4,10	0,262	6,39	0,38	0,158	60,4	0,23	0,019	0,46	0,03
Versuch 2	3,61	0,245	6,8	0,39	0,170	69,3	0,27	0,021	0,58	0,03
Ätherextrakt des Methanolextraktes										
Versuch 1 . . .	1,29	0,097	7,5	0,14	0,036	37,1	0,05	0	0	0
Versuch 2 . . .	1,07	0,107	9,9	0,17	0,037	43,4	0,06	0	0	0
NaOH-Extrakt										
Versuch 1	9,64	2,270	23,6	3,29	0,627	27,6	0,91	0,209	2,18	0,304
Versuch 2	8,80	2,080	23,6	3,30	0,623	29,8	0,99	0,188	2,14	0,3
Strohrückstand nach Extraktionen . .										
Versuch 1	55,15	0,269	0,49	0,39	0,207	76,9	0,30	Sp.	—	—
Versuch 2	49,67	0,253	0,51	0,4	0,201	79,6	0,32	Sp.	—	—
SiO_2-Blindwert bei Extraktion mit NaOH.		0,066			0,060					

Zusammenhang sei auf eine Mitteilung von PANASYUK und KALADZHI (44) verwiesen, die aus dem Methanolextrakt von Stroh einen nach der Normann-Methode mit Ammoniumoxalat extrahierbaren Pektinsäurekomplex in einer Ausbeute von 0,83% auf das Gewicht des Ausgangsstrohs bezogen erhielten, der neben 10,44% Asche, 4,13% N-haltige Substanzen, 12,94% Methylpentosen, 43,44% Uronsäuren auch 14,52% Galaktose neben 8,97% Methoxyl und 7,24% Essigsäure enthielt. Leider liegen für diesen Komplex keine Angaben für den Si-Gehalt vor. Es ist aber auffallend, daß die in unserem Ätherextrakt gefundene Galaktosemenge mit der in dem isolierten Pektinsäurekomplex größenordnungsmäßig ziemlich übereinstimmte.

Wie bereits erwähnt, enthielt der mit heißer 5%iger NaOH erhaltene Extrakt (Tabelle 3) keine Zuckeranteile, und die im Extrakt bestimmte Kieselsäure lag nach der Neutralisation mit HCl als unlöslicher Niederschlag vor. Da trotz des hohen gelösten Kieselsäureanteils auch hier keine ätherlöslichen Si-Komponenten im NaOH-Extrakt erhalten werden konnten, müssen die in Lösung gegangenen organischen Si-

mit Methanol und anschließender Extraktion mit 5% NaOH.
Stroh vom Winterroggen.

bestimmt				Zuckerkomponenten als Phenylosazon bestimmt				Rohproteingehalt berechnet aus dem Stickstoffwert × 6,3		
P_2O_5			Red.-Wert nach FEHLING berechnet auf Galaktose							
g	%	%-Anteil vom Strohausgangsmaterial	g	g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial	Smpp. Grad	g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial
0,177	—	0,256	—	—	—	—	—	—	—	3,20
0,158	—	0,25	—	—	—	—	—	—	—	3,15
0,083	2,02	0,12	0,111	0,064	1,55	0,093	168, 190, 204	0,367	8,93	0,4
0,077	2,13	0,122	0,108	0,061	1,69	0,097	168, 189, 206	0,284	7,85	0,45
0,056	4,32	0,08	0,056	0,053	4,09	0,077	168, 190	0	0	0
0,047	4,36	0,07	0,058	0,054	4,97	0,086	169, 190	0	0	0
0,090	0,94	0,13	0,094	0	—	—	—	1,655	17,3	2,4
0,087	1,0	0,138	0,091	0	—	—	—	1,575	17,9	2,5
0	0	0	—	—	—	—	—	0	0	0
0	0	0	—	—	—	—	—	0	0	0
—										

Verbindungen durch die Einwirkung der siedenden NaOH zerstört worden sein. Es konnte sich dadurch vielleicht wasserlösliches Na-Silikat bilden, aus dem die Kieselsäure nach Neutralisation in reiner Form ausfallen konnte. Daß Zucker-Kieselsäureester durch NaOH gespalten werden, zeigten Modellversuche zur Prüfung der Adsorptionseigenschaft der aktiven Quarzoberfläche gegen verschiedene reduzierende Monosaccharide (8). Wenn auch die Bindung der Monose hier nicht an der normalerweise reaktionsfähigsten Aldehydgruppe erfolgte, so war eine quantitative Abspaltung bereits nach mehrstündigem Schütteln mit 2—5%iger NaOH bei Zimmertemperatur möglich.

Für weitere Versuche wurden daher alkalische Extraktionsmittel nicht mehr verwendet.

Isolierung von organischen Kieselsäureverbindungen aus der Roggenhalmwand durch Heißwasserextraktion.

So wie fast jede Zell- und Gewebereaktion der Pflanze in wäßriger Phase erfolgt, ist auch für jeden Abbau und Aufschluß von Zellwand-

strukturelementen das Wasser das physiologisch verwandteste und schonendste Lösungsmittel, um möglichst naturgetreue Bausteine aus der Zellwand zu eluieren. Bekanntlich ist der größte Teil der hochpolymeren Zellwandbestandteile in kaltem Wasser unlöslich, ihre Löslichkeit steigt aber bei Temperatursteigerung auf 100° und darüber stark an. Da Roggenstroh an kochendes Wasser bis zu 11% lösliche Substanzen abgibt (25), wurde zuerst an den vorliegenden Strohproben die Kieselsäuremenge festgestellt, die neben anderen Bestandteilen von kaltem und heißem Wasser gelöst wird (s. Tabelle 4).

Die Ermittelung der analytischen Werte geschah in der Weise, daß Proben von je 100 g (Trockensubstanz) einerseits 3mal 2 Std mit H_2O bei Zimmertemperatur vorsichtig geschüttelt wurden, andererseits das gleiche Material mit H_2O 3mal 2 Std ausgekocht wurde. Die Extraktion mit kaltem Wasser ergab zu geringe Werte (lösliche Si-Mengen), als daß eine analytische Untersuchung lohnte. Mit heißem Wasser gingen aber bei altem Stroh von 1,68% 0,81%, d. h. ungefähr 48%, bei noch im Wachstum befindlichem Jungstroh ungefähr 54% in Lösung, die durch eine Vorbehandlung des Strohmaterials mit Methanol-Benzol (1 : 3) noch erhöht werden konnten.

Tabelle 4 (Vorversuch). *Verteilung der Si-Komponenten nach Extraktion mit Aqua dest. bei 20° und 100°.*

Serie I: altes Stroh vom Winterroggen. Serie II: frisches Stroh vom Sommerroggen.

Ausgangsmaterial		Trockengewicht g	Aschegehalt %	Aschegehalt % vom Ausgangsmaterial	SiO_2-Gehalt vom Ausgangsmaterial %
Versuch bei 20°.					
Strohausgangsmaterial . .	Serie I	100,0	4,05	4,05	1,67
	Serie II	100,1	3,85	3,85	1,82
Strohrückstand nach Extraktion	Serie I	97,14	4,12	3,80	1,65
	Serie II	95,6	3,97	3,36	1,80
H_2O-Extrakt	Serie I	2,6	9,8	0,25	0,015
	Serie II	4,3	11,3	0,48	0,02
Versuch bei 100°.					
Strohausgangsmaterial . .	Serie I	100,02	4,05	4,05	1,68
	Serie II	100,0	3,86	3,86	1,82
Strohrückstand nach Extraktion	Serie I	91,43	1,59	1,45	0,85
	Serie II	89,97	1,51	1,36	0,83
H_2O-Extrakt	Serie I	8,51	30,6	2,61	0,81
	Serie II	9,80	25,4	2,49	0,98

Untersuchungen am abgelagerten, ausgereiften Stroh vom Winterroggen.

Mit Hilfe dieser Extraktionsmethode wurde in 3 Parallelserien bei wechselnden Ausgangsmengen neben der Löslichkeit der Kieselsäureanteile besonders das Verhalten der Kohlenhydrat- und Eiweißkomponenten verfolgt. Da der Phosphorsäure, wie den vorher mitgeteilten Düngungsversuchen zu entnehmen ist, gewisse Austauschfunktionen mit der Kieselsäure zugesprochen werden, also der Kieselsäureeinbau als Gerüstsubstanz in die Zellwand durch die Phosphorsäure, vielleicht auch durch Ca-Salze beeinflußt werden könnte, wurden diese bei der analytischen Untersuchung der Extrakte mit berücksichtigt (Tabelle 5).

Durch die vorbehandelnde Extraktion mit Methanol-Benzol (1 : 3) im Soxhlet konnten aus dem Stroh 2,5—2,6% (hauptsächlich Fett-Wachsanteile) gelöst werden, die nahezu kieselsäurefrei waren[1], aber ungefähr 5,8% P_2O_5, dagegen kein Calcium, keinen Zucker und auch kein Eiweiß enthielten.

Aus dem mit Benzol nochmals ausgezogenen Methanol-Benzolextrakt konnte keine ätherlösliche Si-Komponente erhalten werden.

In der anschließenden Heißwasserextraktion wurden fast 11% an Substanzen und ungefähr 66% der im Ausgangsmaterial vorliegenden Si-Verbindungen neben größeren Mengen von Calcium und Phosphor gelöst, während bei dem gleichen Strohmaterial ohne Vorbehandlung mit Methanol-Benzol nur 8,5% der gesamtlöslichen Substanzen und nur 48% der Si-Anteile eluierbar waren. Diese durch die Vorbehandlung verstärkte Löslichkeit kann man nur damit erklären, daß entweder die durch die Methanol-Benzolbehandlung entfernten, wasserabweisenden Fett-Wachsanteile sonst eine Art Schutzwirkung entfalten, oder vermutlich das Methanol durch Methylierung organischer Gruppen eine auflockernde oder aufspaltende Wirkung im Zellwandgerüst bewirkt und damit eingebaute organische Si-Komplexe leichter löslich macht.

Betrachtet man die im Heißwasserextrakt vorliegenden, organischen Anteile, so fällt der trotz schonender Bedingungen erhaltene geringe Anteil an Zuckerkomponenten gegenüber der großen Kieselsäuremenge auf, was die Schlußfolgerung zuläßt, daß schon durch die Heißwasserextraktion bereits ein großer Teil der organischen Si-Komponenten wahrscheinlich zerstört wurde, da beim Einengen der Extrakte bereits ein Teil der gelösten Kieselsäure in eine unlösliche, polymerisierte Form überging.

Nach den im Mikroschmelzpunktgerät nach Kofler bestimmten 4 Phenylosazon-Smpp. von 160—162°, 168°, 189—190° und 205° liegen im

[1] Siehe Fußnote S. 370.

Tabelle 5. *Verteilung der Si-Komponenten nach Extraktion mit* Ausgangsmaterial: gelagertes

Material getrocknet	In g	Aschegehalt			SiO_2-Gehalt in der Asche		SiO_2-Gehalt vom Stroh-ausgangs-material	Aus der Asche		
								CaO		
		g	%	%-Gehalt vom Stroh-ausgangs-material	g	%	%	g	%	%-Gehalt vom Stroh-ausgangs-materlai
Strohausgangs-material	60,00	2,425	4,05	4,05	0,999	41,0	1,67	0,203	0,34	0,34
	40,00	1,610	4,03	4,03	0,667	40,8	1,66	0,130	0,32	0,32
	54,99	2,225	4,05	4,05	0,919	41,2	1,67	0,193	0,35	0,35
Methanol-Benzol(1:3)extrakt	1,54	0,131	8,47	0,22	etwa 0,008	etwa 6,1	0,012	Ø	—	—
	1,01	0,079	7,77	0,2	Ø	Ø	Ø	Ø	—	—
	1,43	0,073	5,11	0,25	etwa 0,005	etwa 6,9	0,01	Ø	—	—
Heiß-H_2O-Extrakt	6,58	1,784	27,03	2,97	0,663	37,0	1,10	0,156	2,37	0,024
	4,38	1,245	28,4	3,1	0,450	36,1	1,12	0,111	2,53	0,028
	6,02	—	—		0,595	—	1,08	0,144	2,39	0,024
Ätherextrakt des H_2O-Extraktes	0,34	0,114	33,0	0,19	0,043	38,3	0,07	Ø	—	—
	0,20	0,072	34,4	0,18	0,034	47,2	0,08	Ø	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Strohrückstand nach den Extraktionen	51,35	0,495	0,965	0,82	0,307	62,0	0,51	0,037	0,07	0,06
	—	0,370	—	0,67	0,264	71,4	0,48	0,018	—	0,04
	46,99	—	—		0,303	—	0,55	0,050	0,106	0,09

Heißwasserextrakt mindestens 4 verschiedene Zuckerarten vor. Die Osazon-Smpp. von 160—162° und 168° weisen auf Pentosen (Arabinose, Xylose) hin, da eine Bildung von Phenylhydrazonen auch hier bei 12fachem Überschuß des Fällungsreagens bei frei vorliegenden Zuckern auszuschließen war. Zur Ausbildung von Hydrazonen kann es in besonderen Fällen wie z. B. bei der Zuckeradsorption an der Quarzoberfläche, wie HOLZAPFEL (20a) zeigen konnte, trotzdem kommen, wenn die der Aldehydgruppe benachbarte, für die Osazonbildung erforderliche Hydroxylgruppe blockiert ist. Die Anwesenheit von Pentosen war aber auch durch die Orzinreaktion gesichert. Der Smp. von 189—190° zeigt Galaktose an, wie bereits früher nachgewiesen wurde. Nur die den Smp. von 205° ergebende Zuckerkomponente war nicht ganz eindeutig zu bestimmen, da isomere Zucker wie d-Glucose, d-Mannose und d-Fructose aber auch z. B. d-Glucosamin den gleichen Phenylosazon-Smp. ergeben. Daß es sich um Mannose handeln könnte, entnehmen wir einer Mitteilung von PANASYUK und KALADSHI (44), die beim Wasserauszug aus Stroh an Kohlenhydraten (auf Ausgangsmenge berechnet) neben 0,19% Pentosen, 0,12% Methylpentosen, an

Methanol-Benzol (1:3) und anschließender Heißwasserextraktion.
Stroh vom Winterroggen.

bestimmt P_2O_5			Red.-Wert nach FEHLING auf Galaktose	Zuckerkomponenten als Phenylosazone bestimmt				Rohproteingehalt berechnet aus Stickstoffwert × 6,3		
g	%	%-Gehalt vom Stroh-ausgangs-material	g	g	%	%-Gehalt vom Stroh-ausgangs-material	Smpp. Grad	g	%	%-Gehalt vom Stroh-ausgangs-material
0,156	0,26	0,26	—			—	—	—	—	3,24
0,101	0,25	0,25	—			—	—	—	—	3,21
0,143	0,26	0,26	—			—	—	—	—	—
0,090	5,84	0,15	0,015	0	—	—	—	0	—	—
0,058	5,78	0,15	0,017	0	—	—	—	0	—	—
—	—	—	0,009	0	—	—	—	0	—	—
0,061	0,94	0,1	0,224	0,090	1,36	0,15	160—162, 168	1,625	24,7	2,7
0,040	0,915	0,1	0,200	0,065	1,48	0,16	189—190, 205	1,044	23,8	2,6
0,051	0,85	0,1	0,190	0,060	1,00	0,11		1,381	22,9	2,5
0,055	16,2	0,09	0,068	0,066	19,1	0,11	168, 188—189	0	—	—
0,036	18,0	0,09	0,049	0,050	23,9	0,12		0	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Spuren	—	—	—	—	—	—	—	0,236	0,46	0,4
Spuren	—	—	—	—	—	—	—	0,170	—	0,42
—	—	—	—	—	—	—	—	0,357	0,76	0,65

Hexosen 0,04% Mannose, 0,13% Galaktose und Uronsäuren und 0,18% unbestimmte reduzierende Substanzen erhalten hatten. Irgendwelche Aussagen über eine quantitative Beziehung der verschiedenen Zucker zu den vorliegenden Kieselsäureverbindungen waren hier nicht möglich.

Aus dem hohen Rohproteingehalt des Heißwasserextraktes, der in seiner Gesamtmenge mit den Angaben von WOLFF (52) übereinstimmte, läßt sich über die wirklich beteiligten Eiweißkomponenten kaum etwas aussagen, da der angegebene Wert aus dem bestimmten N-Wert errechnet wurde. Sicherlich werden native Eiweißverbindungen bei diesen Extraktionsbedingungen bereits denaturiert, koaguliert, vielleicht sogar hydrolysiert, worauf der gegenüber den vorliegenden Zuckermengen stark erhöhte Reduktionswert hinweist.

Durch Schütteln des frisch hergestellten und sehr vorsichtig im Vakuum bei 40° eingedunsteten Heißwasserextraktes mit wasserfreiem Äther bei 20° gelang es wie in den Vorversuchen, einen organischen Kieselsäurekomplex zu eluieren, der 7,5% der im Heißwasserextrakt vorliegenden Si-Komponenten enthielt. Neben 32—34% Asche-anteilen, die bei einem Versuch 38,3% SiO_2 und 48% P_2O_5, bei einem

Parallelversuch z. B. 47,2% SiO_2 und 50% P_2O_5 enthielten, konnten an organischen Anteilen

	Parallelversuch:
19,1% Zucker	23,9% Zucker
19,5% verseifbare Fette	20,8% verseifbare Fette

bestimmt werden.

Wichtig ist die Beobachtung, daß in dem Ätherextrakt das in den Vorversuchen beobachtete molare Verhältnis Kieselsäure : Zucker von 2 : 1 wiedergefunden wurde, es konnte sich also nicht um eine Zufälligkeit handeln. Eine Konstanz oder Gesetzmäßigkeit für die anderen bestimmten Komponenten konnte nicht beobachtet werden. In diesem konstanten Kieselsäure-Zuckerverhältnis waren auch die beteiligten Zuckerarten die gleichen wie in den früheren Versuchen. Ihre Bestimmung gelang erst nach Verseifung des Ätherextraktes mit 2%iger NaOH, sie mußten also gebunden vorliegen. Der weitaus größte Anteil der Zucker mit dem Phenylosazon-Smp. von 189° bestand aus Galaktose, während der Zuckeranteil mit dem Smp. von 168°, den wir einer Pentose zuteilten, nicht über 7% liegt, wie eine Kontrolle mit Hilfe der Orzinreaktion mit definierten Pentosen im Modellversuch ergab.

Die in die Ätherextrakte neben den organischen Si-Verbindungen stets gleichzeitig wandernde Phosphorsäure kann nur in einer organischen Bindungsform vorliegen und steht sicherlich mit der Kieselsäure über die am Si-Komplex beteiligten Zuckerkomponenten oder über die noch anwesenden Fette in naher Beziehung. Diese Annahme würde die beobachtete Austauschmöglichkeit von Phosphorsäure und Kieselsäure im Mineralstoffwechsel der Pflanze leicht erklären.

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen kann bisher festgestellt werden, daß aus der ausgereiften Roggenhalmwand trotz ganz verschiedener Extraktionsgänge (Tabelle 3 und 5) aus methanol- und wasserlöslichen Extrakten in kleinen Mengen ein ätherlöslicher, Ca- und N-freier Komplex neben veresterten Fettsäuren und Phosphorsäure erhalten werden kann, in dem Kieselsäure : Zucker im molaren Verhältnis von 2 : 1 vorliegt und der an der Bindung mit der Kieselsäure hauptsächlich beteiligte Zucker Galaktose sein muß.

Versuche mit noch im Wachstum stehendem Jungstroh vom Sommerroggen.

In der Hoffnung, in der wachsenden Roggenhalmwand neben dem bereits oben beobachteten Si-Komplex in größerer Menge auf noch nicht in der Zellwand eingebaute wasserlösliche, im Organismus zirkulierende Transportformen der Kieselsäure zu stoßen, wurden kurz vor der Blüte stehende Halme vom Sommerroggen dem gleichen Extraktionsgang mit Methanol-Benzol und anschließend mit heißem Wasser unterworfen (s. Tabelle 6).

Die SiO_2-, Ca- und P-Werte zeigten bei diesem Ausgangsmaterial eine etwas andere Zusammensetzung als bei Winterroggen, was aber mit den anderen Standort- und Düngungsbedingungen zusammenhängen konnte.

Ebenfalls ergab die vorbehandelnde Extraktion mit Methanol-Benzol bei dem unter gleichen Bedingungen bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Sommerroggenstroh gegenüber dem ausgereiften Stroh des Winterroggens ein etwas anderes Bild. Es gingen nicht nur wesentlich höhere Substanzmengen neben dem Chlorophyll in Lösung, sondern der Methanol-Benzolextrakt enthielt hier ungefähr 2,2—2,3% SiO_2 neben Ca und einer sehr hohen Menge von Phosphor. Weiterhin ergab er einen hohen Reduktionswert und auch einen geringen Rohproteingehalt. Mit wasserfreiem Äther ließ sich hier bei 20° eine kieselsäurehaltige Verbindung eluieren, was bei Strohmaterial vom ausgereiften Winterroggen nicht gelungen war. Trotz längerer Verseifungszeit mit 2% NaOH war es aber nicht möglich, trotzdem Zucker vorliegen mußten, beim Methanol-Benzolextrakt ein Zuckerosazon zu erhalten. Daß Zuckerkomponenten anwesend sein mußten, zeigte der Ätherextrakt des mit Benzol[1] ausgezogenen Methanol-Benzolextraktes, in dem neben einer kleinen Menge Kieselsäure 17,2% Zucker nach der Verseifung bestimmt werden konnte. Die Phenylosazonreaktion beim Methanol-Benzolextrakt muß daher entweder durch eine hier anwesende Verbindung (vielleicht durch die anwesenden Fette) gestört werden oder der Zucker liegt hier mit der Kieselsäure in einer anderen Bindungsart vor, die von 2%iger NaOH nicht gespalten wird.

Der neben der Kieselsäure im Ätherextrakt vorliegende Zucker ließ sich auffallend leicht ohne große Reinigung als Phenylosazon bestimmen und zeigte nur einen Smp. von 190°, nach dem nur Galaktose vorliegen konnte. Das molare Verhältnis von Kieselsäure : Zucker betrug hier annähernd 1 : 1. An verseifbaren Fetten wurden 32,1% bestimmt, während freie Fettsäuren und Phytosterine nach der Benzolbehandlung nicht nachgewiesen werden konnten.

An dieser Stelle war es zum erstenmal gelungen, den kieselsäurehaltigen Ätherextrakt weitgehend analytisch zu erfassen, der folgende Anteile enthielt: 32,1% verseifbare Fette, 17,2% Zucker (Galaktose), 3,41% SiO_2, 44,75% P_2O_5.

Der aus dem C-H-Analysenwert des Ätherextraktes für die Fettsäure (aus den verseifbaren Fetten) anteilmäßig errechnete Wert von 75,92% C

[1] Eine Extraktion des Si-haltigen Methanol-Benzolextraktes mit Benzol vor der Ätherextraktion erwies sich als günstig, da die organischen Si-Komponenten nicht von Benzol gelöst wurden, aber der größte Teil der an dem Si-Komplex nicht beteiligten-Fett-Wachsanteile entfernt werden konnte.

Tabelle 6. *Verteilung der Si-Komponenten nach Extraktion mit* Material: frisch geerntete Halme vom Sommerroggen

Material getrocknet	In g	Aschegehalt		SiO_2-Gehalt vom Strohausgangsmaterial		Aus der Asche CaO		
		%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial	g	%	g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial
Strohausgangsmaterial	90,01	3,8	3,8	1,629	1,81	0,269	—	0,30
	70,00	3,92	3,92	1,287	1,84	0,230	—	0,30
Methanol-Benzol-(1:3) extrakt	3,64	9,15	0,37	0,081	0,09	0,073	2,0	0,08
	2,71	9,15	0,35	0,064	0,09	—	—	—
Benzol-Extrakt vom Methanol-Benzol-Extrakt	1,71	3,31	—	Ø	Ø	Ø	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—
Äther-Extrakt vom Benzol-Extrakt des Methanol-Benzol-Extraktes	0,28	49,4	0,15	0,012	0,015	Ø	—	—
	0,22	—	—	0,021	0,03	Ø	—	—
Heißwasserextrakt	9,91	27,2	3,0	1,150	1,28	0,216	2,18	0,24
	7,80	26,0	2,9	0,905	1,29	—	—	—
Äther-Extrakt vom H_2O-Extrakt	0,25	60,0	0,17	0,042	0,05	Ø	—	—
	0,19	58,6	0,16	0,036	0,04	Ø	—	—
Strohrückstand nach den Extraktionen	69,15	0,795	0,61	0,405	0,45	Spuren	—	—
	58,93	—	—	—	—	Spuren	—	—

[1] Eine Fällung als Osazon war nicht möglich.

und 12,75% H läßt mit Rücksicht auf die Jodzahl auf eine C_{18}-Säure (wahrscheinlich Stearinsäure) schließen.

Eine weitere ätherlösliche Si-Komponente konnten wir bei der jungen Roggenhalmwand aus dem Heißwasserextrakt (Tabelle 5) erhalten, die in der stofflichen Zusammensetzung mit den Si-haltigen Ätherextrakten aus altem Roggenstroh eine bemerkenswerte Übereinstimmung zeigte.

Wenn auch der Ascheanteil mit ungefähr 60% etwas höher liegt, so war neben der Kieselsäure nur Phosphorsäure als anorganische Komponente nachzuweisen. Stickstoff und Calcium wurden nicht beobachtet. Die als Phenylosazone bestimmten Zuckeranteile machten 29%, verseifbare Fette 11,2% aus, während freie Fettsäuren und Phytosterine hier nicht nachgewiesen werden konnten.

Es wird auf das hier wieder beobachtete molare Verhältnis Kieselsäure : Zucker von 2 : 1, sowie auf die Anwesenheit der Galaktose und einer Pentose besonders hingewiesen, wobei die Pentose wie in den vorher beschriebenen Versuchen nur 6—7% der beteiligten Zuckeranteile ausmachte. Auch hier gelang eine weitgehende Erfassung des Äther-

Methanol-Benzol (1 : 3) und anschließender Heißwasserextraktion.
kurz vor der Blüte.

bestimmt P_2O_5			Red.-Wert nach FEHLING berechnet auf Galaktose	Zuckerkomponenten als Phenylosazone bestimmt				Rohproteingehalt berechnet aus Stickstoffwert × 6,3		
g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial	g	g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial	Smpp. Grad	g	%	%-Gehalt vom Strohausgangsmaterial
0,394	—	0,44	—	—	—	—	—	—	—	—
0,288	—	0,41	—	—	—	—	—	—	—	—
0,180	4,94	0,2	0,287	—[1]	—	—	—	0,017		0,02
0,126	4,65	0,18	0,194	—[1]	—	—	—	0,014		0,02
0,055	—	—	0	0		—		0	—	—
—	—	—	—	—		—		—	—	—
0,127	69,0	0,14	0,064	0,049	17,2	0,049	190	0	—	—
0,085	51,2	0,12	0,090	0,072	31,8	0,08	190	0	—	—
0,198	1,99	0,22	0,550	0,196	1,97	0,22	160, 162, 169	2,890	29,1	3,1
—	—	—	0,393	0,133	1,70	0,19	190, 206	2,305	29,5	3,1
0,099	39,4	0,11	0,080	0,073	28,9		169, 190	0	—	—
0,070	36,6	0,10	0,070	0,065	34,0			0	—	—
0	—	—	—	—	—	—		0,092	0,13	0,1
0	—	—	—	—	—	—		0,133	0,226	0,15

extraktes: 16,63% SiO_2, 39,2% P_2O_5, 29,0% Zucker (mindestens 93% Galaktose), 11,2% verseifbare Fette; der gemittelte C-H-Analysenwert des Ätherextraktes betrug 29,64% C, 4,2% H, 59,3% Rückstand.

Diese Werte auf die in Esterform vorliegende Fettsäure berechnet ergeben wie im Ätherextrakt des Methanol-Benzolextraktes 75,92% C und 12,75% H.

Die theoretischen Werte für Stearinsäure betragen: 75,98% C und 12,72% H.

Man kann also über die aus der wachsenden Roggenhalmwand mit neutralen Lösungsmitteln extrahierbaren Si-Komponenten aussagen, daß in kleinen Mengen hier eine bereits durch Methanol-Benzol eluierbare und in Äther lösliche organische Kieselsäureverbindung im Gegensatz zur ausgereiften Roggenhalmwand erhalten werden konnte. Die sie begleitenden ätherlöslichen Anteile bestanden zu einem großen Teil aus Phosphorsäure und verseifbaren Fetten, zu einem kleineren Teil aus reiner Gelaktose, die zur vorliegenden Kieselsäuremenge in einem molaren Verhältnis von ungefähr 1 : 1 stand und wahrscheinlich in einer bisher in diesen Untersuchungen noch nicht beobachteten Esterbindung vorlag. Ihr Nachweis als Phenylosazon gelang aber im Methanol-Benzol-

extrakt nicht, sondern erst nach nochmaligem Auszug des Methanol-Benzolextraktes mit Benzol unter Eluierung Si-freier Fett-Wachsanteile im Ätherextrakt nach Verseifung mit 2%iger NaOH.

Außerdem konnte aus dem Heißwasserextrakt mit Äther bei Zimmertemperatur ein Ca- und N-freier Extrakt erhalten werden, der neben Phosphorsäure und veresterten Fettsäuren (eventuell Stearinsäure), Kieselsäure und Zucker (hauptsächlich Galaktose) enthielt. Die gefundenen Kieselsäure- und Zuckermengen standen im molaren Verhältnis von 2 : 1.

Diese bei allen ätherlöslichen Extrakten beobachtete molare Abhängigkeit des Zuckers von der Kieselsäure ließ auf eine definierte Bindung des Zuckers im Kieselsäurekomplex schließen, die auch in dem jeweiligen Ausgangsextrakt, z. B. im Heißwasserextrakt, vorliegen mußte.

Untersuchungen der Heißwasserextrakte auf Si-Komponenten mit Hilfe der Elektrodialyse.

Um die analytischen Ergebnisse und die sich aus ihnen ergebenden Schlußfolgerungen nochmals zu überprüfen, wurden unter den gleichen Versuchsbedingungen frisch hergestellte, analysierte Heißwasserextrakte der Elektrodialyse unterworfen. In dem verwendeten Dialysiergerät nach MANGOLD war zur Prüfung der Membraneigenschaft der verwendeten Ultra-Cellafilter (fein) in Modellversuchen festgestellt worden, daß die Kieselsäure nur in niedrig molekularer Form die Membran zum Anodenraum durchwandern konnte.

Wurden die Heißwasserextrakte aus altem und jungem Stroh in Parallelversuchen dialysiert und die in den Anoden- und Kathodenraum wandernden Komponenten laufend beobachtet, so konnten bereits nach 30 min die ersten Kieselsäuremengen aber auch Zuckeranteile im Anodenraum nachgewiesen werden, die, wie aus den Analysenwerten (Tabelle 7 und 8) zu ersehen ist, bis zu einer Dialysedauer von 4 Std stark anstiegen. Die Versuche wurden an dieser Stelle abgebrochen, da in Modellversuchen mit Monosen durch das schnelle Absinken des p_H-Wertes unter 3 im Anodenraum ein merklicher Zuckerabbau beobachtet wurde und Puffersubstanzen in diesem Fall nicht verwendet werden konnten.

Die Elektrodialyse der Heißwasserextrakte bestätigte nicht nur in vollem Umfang die bisherigen Ergebnisse und Vorstellungen über die aus der Roggenhalmwand isolierten Kieselsäurekomplexe, sondern sie erbrachte weiter den Nachweis, daß die Kieselsäure im Heißwasserextrakt zum Teil in niedrigmolekularer Form vorliegt. Diese Zustandsform der Kieselsäure konnte sich aber sicher nur in Bindung mit organischen Komponenten durch OH-haltige Gruppen (53), (60) erhalten. Die Elektrodialyseversuche zeigten ferner, daß die Kieselsäure mit Zucker,

und zwar nach dem Phenylosazon-Smp. von 190°, nur mit Galaktose und Phosphorsäure fast in dem gleichen Mengenverhältnis, wie sie in den entsprechenden Ätherextrakten vorlagen, ohne Anwesenheit N-haltiger Verbindungen und Pentosen in den Anodenraum wanderte. Auch das molare Kieselsäure-Zuckerverhältnis von 2 : 1 war hier vorhanden, nur der Verbleib der Fettsäureesteranteile nicht festzustellen. Aller Wahrscheinlichkeit nach wurden die den Si-Komplex sonst in den Ätherextrakt begleitenden Fette hier an der Membran abgespalten und zurückgehalten. Daß die Kieselsäure-Zuckerbindung hierbei nicht gestört wird, läßt die Annahme zu, daß die den Si-Komplex begleitenden Fettsäureester wenn überhaupt, dann nur in einer viel lockereren Bindung als die Zuckerkomponente vorliegen können, andererseits der Zucker direkt an die Kieselsäure gebunden sein mußte.

Damit ist das auf ganz verschiedenen Wegen ermittelte konstante Kieselsäure-Zuckerverhältnis als ein reelles Bindungsverhältnis anzusehen. Wenn auch über die an diesem Kieselsäurekomplex noch

Tabelle 7. *Elektrodialyse des Heißwasserextraktes von altem Stroh des Winterroggens. Anodenraum.*
60,0 g trockenes Ausgangsmaterial ergab 6,52 g Heißwasserextraktionsrückstand.

Dialysedauer		pH	Stromstärke	SiO_2		P_2O_5		Zucker Redukt.-Wert		Zucker als Phenylosazon		Pentosen[1]	CaO	N	Fettsäuren und verseifbare Fette	Molares Verhältnis von SiO_2 und Zucker
			Amp.	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Smp. Grad		mg	mg	mg	
Versuch 1	30 min	6,5	0,007	Spuren	—	—	—	Spuren	—	—	—	negativ	0	0	—	—
Versuch 2		6,5	0,009	Spuren	—	—	—	—	—	—	—	negativ	0	0	—	—
Versuch 1	1 Std	6,3	0,018	7	11,65	5	3,52	10	5,56			—	0	0	0	2,09:1
Versuch 2		6,2	0,018	8	13,31	6	4,22	12	6,67			—	0	0	0	2,0 :1
Versuch 1	2 Std	5,8	0,026	15	25,0	13	9,17	21	11,65			negativ	0	0	—	2,15:1
Versuch 2		5,6	0,028	18	30,0	15	10,56	26	14,42			negativ	0	0	—	2,08:1
Versuch 1	4 Std	4,2	0,02	33	55,0	22	15,5	50	27,89	45	190	negativ	0	0	0	1,98:1
Versuch 2		4,2	0,02	35	58,3	25	17,6	51	28,3	48	190	negativ	0	0	0	2,06:1

[1] Orzinreaktion auf Pentosen.

Tabelle 8. *Elektrodialyse des Heißwasserextraktes von frischem Stroh vom Sommerroggen. Anodenraum.*
70,0 g frisches, getrocknetes Ausgangsmaterial ergab 7,920 g Heißwasserextraktionsrückstand.

Dialysedauer		pH	Stromstärke	SiO_2		P_2O_5		Zucker Redukt.-Wert		Zucker als Phenylosazon		Pentosen[1]	CaO	N	Fettsäuren und verseifbare Fette	Molares Verhältnis von SiO_2 und Zucker
			Amp.	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Mol. 10^{-3}	mg	Smp. Grad		mg	mg	mg	
Versuch 1	30 min	6,5	0,009	4,5	7,5	7	4,83	8	4,4	—	—	negativ	0	0	—	1,7 :1
Versuch 2		6,5	0,009	6	10	9	6,33	8	4,4	—	—	negativ	0	0	—	2,27:1
Versuch 1	1 Std	6,0	0,02	9	15	15	10,5	14	7,78	—	—	negativ	0	0	0	1,93:1
Versuch 2		6,1	0,02	10	16,6	19	13,39	15	8,35	—	—	negativ	0	0	0	1,94:1
Versuch 1	2 Std	5,5	0,025	27	45,0	51	35,9	40	22,2	38	190	—	0	0	—	2,02:1
Versuch 2		5,5	0,029	29	48,4	48	33,8	44	24,4	—	—	—	0	0	—	1,98:1
Versuch 1	4 Std	4,1	0,025	48	80,0	84	59,1	73	40,5	61	190	negativ	0	0	0	1,97:1
Versuch 2		4,0	0,025	50	83,4	81	57,0	75	41,6	72	190	negativ	0	0	0	2,0 :1

[1] Orzinreaktion auf Pentosen.

beteiligten organischen Komponenten (dafür spricht seine Ätherlöslichkeit) bisher nur ausgesagt werden kann, daß wahrscheinlich auch die Fettsäureester und damit sicherlich auch die Phosphorsäure zu dem Komplex in einer Beziehung stehen, so glauben wir hiermit andererseits bewiesen zu haben, daß eine dieser Komponenten die Galaktose ist, die esterartig direkt an die Kieselsäure gebunden ist. Eine direkte Beteiligung von Eiweißkomponenten konnte in keinem Fall beobachtet werden. Mit dem Nachweis der Kieselsäure-Galaktosebindung ist nicht nur die Bildung organischer Si-Verbindungen im Organismus erneut gesichert und der erste Schritt für eine Konstitutionsaufklärung solcher nativen Si-Komplexe gegeben, sondern diese scheinbar sehr stabile Bindungsform als ein wesentlicher Baustein für hochmolekulare Gerüstsubstanzen anzusehen. Weiterhin ergeben sich aber auch in physiologischer Hinsicht Anhaltspunkte, daß die Kieselsäure ähnliche Funktionen wie die Phosphorsäure vielleicht im Kohlenhydrathaushalt der Pflanze übernehmen kann.

In hier nicht näher mitgeteilten Modellversuchen über die Wanderung von monodisperser Kieselsäure in Gegenwart verschiedener Zucker im

elektrischen Feld durch Ultra-Cellafiltermembranen wurde festgestellt, daß die Kieselsäurewanderung durch Zucker bei p_H 4—7 (besonders durch Galaktose) beschleunigt werden kann.

Wenn man den pflanzlichen Membranen ähnliche Eigenschaften wie den hier verwendeten Cellulosemembranen zuspricht, wäre diese Beobachtung für die Vorstellung des Kieselsäure-Zuckertransportes in der Pflanze von Bedeutung. Ebenso spricht die von RALEIGH bei kieselsäurefrei ernährten Zuckerrüben beobachtete Anthozyanbildung in den Blättern dafür, daß durch Si-Mangel der Kohlenhydrathaushalt der Pflanze gestört wird und es zu einer Zuckerstauung kommt. Eine Klärung dieser Fragen war aber an dieser Stelle nicht möglich.

Zusammenfassung.

Das Ziel der Untersuchungen war, die Bindungsformen der in der Roggenhalmwand vorliegenden Kieselsäure näher zu studieren, diese Si-Verbindungen mit Hilfe geeigneter Extraktionsverfahren aus dem Stroh zu eluieren, die beteiligten Komponenten zu analysieren, die Konstitution weitgehend zu klären, um hierdurch Anhaltspunkte für die Wirkungsweise der Kieselsäure im Pflanzenorganismus besonders im Hinblick auf die Kieselsäuredüngung zu erhalten.

Als Untersuchungsmaterial dienten ausgereiftes Stroh vom Winterroggen und als Vergleichsmaterial noch im Wachstum stehende Halme vom Petkuser Sommerroggen.

Mit Hilfe von heißem Wasser oder Methanol läßt sich [noch besser nach einer Vorbehandlung mit Methanol-Benzol (1 : 3)] aus der Roggenhalmwand der größte Teil der Kieselsäure (etwa 82%) leicht in Lösung bringen, während ein in der Halmwand zurückbleibender Kieselsäurerest sehr fest an die Gerüstcellulose gebunden ist und erst nach Lösen der Cellulose als unlösliche, polymerisierte Kieselsäure abgeschieden werden kann.

Die wasser- und methanollöslichen Kieselsäureverbindungen aus der Halmwand gehen nach mehrstündigem Kochen leicht in einen unlöslichen, polymeren Zustand über, nur ein Teil bleibt wasserlöslich, aus dem in kleinen Mengen ein ätherlöslicher, organischer Si-Komplex isoliert werden konnte.

Als Zuckerkomponente in diesem Si-Komplex wurde Galaktose nachgewiesen, die zu der Kieselsäure in einem konstanten, molaren Verhältnis von 1 : 2 stand. Da sich dieses konstante Kieselsäure-Galaktoseverhältnis auch bei der Elektrodialyse im Heißwasserextrakt nachweisen ließ, kann es als ein reelles Bindungsverhältnis angesehen werden, zumal die Galaktose in diesem Si-Komplex in verestertem Zustand vorlag und erst durch Verseifung mit 2%iger NaOH in Freiheit gesetzt wurde.

Ob die den Si-Komplex in den Ätherextrakt stets begleitenden Fettkomponenten, Phosphorsäure und eine geringe Menge einer Pentose mit diesem in engerer Beziehung stehen, konnte bisher nicht eindeutig entschieden werden. Wenn man auf Grund der Ätherlöslichkeit des Si-Komplexes eine Beteiligung annimmt, so müssen aber diese Komponenten, wie die Elektrodialyse der Heißwasserextrakte zeigt, viel lockerer als die Galaktose und nur über diese mit der Kieselsäure in Verbindung stehen.

In der noch im Wachstum befindlichen Roggenhalmwand konnte außerdem bereits durch Extraktion mit Methanol-Benzol (1 : 3) ein in der Zusammensetzung der Komponenten gleicher, ätherlöslicher, organischer Si-Komplex gefunden werden, in dem aber die Kieselsäure zur Galaktose in einem Bindungsverhältnis von 1 : 1 stand, ein Hinweis, daß die Kieselsäure mit Zuckerkomponenten, wahrscheinlich je nach der ihr zukommenden physiologischen Aufgabe, verschiedene Veresterungsstufen im pflanzlichen Organismus eingeht.

Literatur.

1. ACHROMEKO, A.: Einfluß der Kieselsäure auf die Ausnutzung der P_2O_5 verschiedenen Ursprungs in der Pflanze. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **34**, 355 (1934). — 2. AMOS, G. L., and H. E. DADSWELL: Silicous inclusions in wood in relation to marine borer resistance. J. Council Sci. Industr. Res. **21**, 190 (1948). — 3. BAIRENSCHEEN and VÀLIJI-NAGY: Nature (Lond.) **1950**. — 4. BLANCHARD, E., et B. CHAUSSIN: Le Blé, plante à silice. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 199 (1933). — 5. BORESCH u. J. SACHSE: Zur Frage nach der Bedeutung der Kieselsäure in der Ernährung des Hafers. Festschrift zum 70. Geburtstag von STOKLASA. S. 172. Berlin 1928. — 6. BUTKEWITSCH, W. S., u. W. W.: Zur Frage der Rolle des DONNANschen Membrangleichgewichtes bei osmotischen Vorgängen in lebenden Zellen. Biochem. Z. **161**, 484 (1925). — 7. DUCHON, FR.: Beiträge zur Erklärung der ertragssteigernden Wirkung der kolloidalen Kieselsäure bei unzureichender Phosphorsäuredüngung in Sandkulturen. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **4**, 324 (1925). — 8. ENGEL, W., u. L. HOLZAPFEL: Modellversuch zum Silikoseproblem. Organische Kieselsäureverbindungen. XVIII. Mitt. Kolloid-Z. **119**, 160 (1950). 9. FERRARI, C.: The adsorption of silicic acid by roots. Boll. sci. facoltà chim. ind. Univ. Bologna **7**, 23 (1949). — 10. FLEISCHER, M.: Agrarkulturchemische Aufgaben und ihre Lösung. Landw. Presse **91**, 169 (1924). — 11. FREY-WYSSLING, A.: Über die Ausscheidung der Kieselsäure in der Pflanze. Ber. dtsch. bot. Ges. **48**, 179 (1930). — Vergleich zwischen der Ausscheidung von Kieselsäure und Kalziumsalzen in der Pflanze. Ber. dtsch. bot. Ges. **48**, 184 (1930). — Der Aufbau der pflanzlichen Zellwände. Protoplasma (Berl.) **25**, 23 (1949). — Der Feinbau der Zellwände. Naturwiss. **28**, 385. — FREY-WYSSLING, A., K. MÜHLETHALER u. R. G. W. WYSCHOFF: Mikrofibrillenbau der pflanzlichen Zellwände. Experientia (Basel) **4**, H. 12 (1948). — 12. GENÈRE, A.: Verteilung einiger Elemente im Strohhalm. C. r. Acad. Sci. Paris **224**, 954 (1947). — 12a. GERICKE, S.: Zur Kenntnis der Phosphate. VI. Angew. Chem. **63**, 193 (1951). — 13. GERLACH: Berichte über die Tätigkeit des Institutes für Getreidelagerung und Futterveredlung. Landw. Jb. **62**, 159 (1925). — MCGEORGE, W. T.: The influence of silica, lime and soil reaction of phosphates in highly ferruginous soils. Soil Sci. **17**, 464

(1924). — Gile, P. L., and J. G. Smith: Colloidal Silice and the effiency of Phosphates. J. Agricult. Res. **31**, 253 (1925). — Brenchly, W. E., E. A. Maskell and Warrington: The inter-relation between silicon and other elements in plant nutrition. Ann. Appl. Biol. **14**, 45 (1927). — Dirks, B.: Die Bodenreaktion und ihr Einfluß auf die Ergebnisse der Neubauermethode. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **12**, 83 (1928). — Reifenberg, A.: Über den Einfluß kolloidaler Kieselsäure auf die Assimilation der Phosphorsäure in Phosphaten. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **17**, 10 (1930). — Arrhenius, O.: Die Phosphorsäurefrage. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **16**, 310 (1930). — Jessen u. Lensch: Über den Einfluß von Kieselsäure, Torf und Humus auf die Löslichkeit und Aufnahme der Phosphorsäure. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **17**, 66 (1930). — Densch u. Steinfatt: Versuche über die Wirkung der Kieselsäure auf die Ernährung der Pflanze. Fortschr. Landw. **6**, 359 (1931). — Sreenivasan, A. M. A.: Investigation on the rôle of silicon in plant nutrition. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **3**, 299 (1936). — 14. Goy: Kieselsäure als Ersatz für Phosphorsäure. Illustr. landw. Ztg **42**, 397 (1922). — 15. Hall, T. D., G. G. T. Morison: On the function of silicon in the nutrition of cereals. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **77**, 474 (1906). — 16. Holzapfel, L.: Verseifung und Polymerisation von Kieselsäureestern in organischen Medien. Organische Kieselsäureverbindungen. III. Mitt. Kolloid-Z. **100**, 29 (1942). — 17. Holzapfel, L.: Neue Gesichtspunkte zum Silikoseproblem. Organische Kieselsäureverbindungen. VII. Mitt. Staub. **1944**, H. 21, S. 143. — 18. Holzapfel, L., u. W. Engel: Mikroskopischer Nachweis der Reaktion von Blutsubstanzen mit aktivem Quarz. Organische Kieselsäureverbindungen. XIII. Mitt. Naturwiss. **36**, 252 (1949). — 19. Holzapfel, L., W. Engel u. P. Fahrnlaender: Untersuchungen über die Entstehung organischer Kieselsäureverbindungen. Organische Kieselsäureverbindungen. XV. Mitt. Kolloid-Z. **115**, 137 (1949). — 20. Holzapfel, L.: Siliziumverbindungen in biologischen Systemen. Organische Kieselsäureverbindungen. XX. Mitt. Z. Elektrochem. u. angew. physik. Chem. **55**, 577 (1951). — 20a. Holzapfel, L.: Eine kritische Betrachtung zur chemischen Theorie der Silikose. Beitr. Silikoseforsch. **1952**, H. 15. — 21. Ishibaski, H.: Über die Beziehung zwischen den Einflüssen von Kieselsäure und Phosphor, sowie Kieselsäure und Stickstoff bei der Ernährung der Reispflanze. J. Sci. Soil Manure, Japan **13**, 242 (1939). Ref. nach engl. Ref. Chem. Abstr. **1939**, 5444. — 22. Jayme, G., u. U. Schenck: Herstellung pentosanarmer Zellstoffe aus Stroh bei gleichzeitiger Furfurolgewinnung. Sonderdruck a. d. Institut für Cellulosechemie der T.H. Darmstadt 1942. — 23. Jennings, D. S.: Über den Einfluß von Kieselsäure. The effect of certain colloidal substances on the growth of wheat seedlings. Soil Sci. 8, 209 (1914). — 24. Kahane, E., and G. Antoine: Sur la nature de la silice chez les êtres vivants. Bull. Soc. Chim. biol. Paris **18**, 1769 (1936). — 25. Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. II, S. 99. 1931. — 26. Knecht and Hibbert: J. Chem. Soc. Lond. **125**, 2009 (1924). — 27. Kofler, A.: Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Berlin und Weinheim 1947. — 28. Koorning, S. A., and E. Kirk: The serum Silica-concentration at various age. J. of Gerontol. 4, 16 (1949). — 29. Kreuzhage u. Wolf: Bedeutung der Kieselsäure für die Entwicklung der Haferpflanze. Landw. Versuchsstat. **30**, 161 (1884). — 30. Küster, E.: Über die Kieselsäureablagerungsformen im Pflanzenkörper. Ber. dtsch. bot. Ges. **15**, 136 (1897). — 31. Lange: Ber. dtsch. chem. Ges. **11**, 361 (1878). — 32. Lehnartz, E.: Handbuch der Biologie, Bd. I, S. 95. 1948. — 33. Lemmermann, O. u. Wiessmann: Die ertragssteigernde Wirkung der Kieselsäure. Z. Pflanzenernährg u. Düngung A **4**, 265 (1925). — 34. Lundegårdh, H.: Die Nährstoffaufnahme der Pflanze, S. 218. Jena 1932. 35. Mengdehl, H.: Der Einfluß kolloidaler Kieselsäure auf die Salzaufnahme

der Pflanze. Jb. wiss. Bot. **75**, 290 (1932). — 36. MICHAELIS: Biochem. Z. **59** (1914). Siehe auch Leitfaden für Biochemische Mikromethoden von P. RUSZCZYNSKI. Berlin 1926. — 38. MIETH, B.: Ist der Kalk des kieselsauren Kalkes zur Ernährung der Pflanze geeignet? Landw. Versuchsstat. **74**, 99 (1910). — 39. MITSCHERLICH: Die ertragssteigernde Wirkung der Kieselsäure bei unzureichender Phosphorsäuredüngung. Georgine **15**, 517 (1922). — 40. MÜHLETHALER, K.: Electron micrographs of plant fibers. Biochim. et Biophysica Acta **3**, 15 (1949). The structure of plant slimes. Exper. Cell. Res. **1**, No 2 (1950). — Ber. schweiz. bot. Ges. **60**, 613 (1950). — 41. NANJE, D. R., and W. S. SHAW: J. Soc. Ind. **44**, 1 (1925). Zit. nach VIEHOEVER u. PRUSKY, Amer. J. Pharmacy **110**, 1446 (1938). 42. OKAWA, K., and R. TANAKA: The relation of silicic acid and sulfuric acid to plants. J. Sci. Soil Manure, Japan **14**, 717 (1940). (Nach engl. Auszugsref.) — 43. PALASI, V. V.: Neue Farbreaktion auf Sterine. Nature (Lond.) **160**, 88 (1947). 44. PANASYUK, V. G., u. G. F. KHALADZHI: J. angew. Chem. (USSR.) **11**, 342 (1938) nach Chem. Abstr. **1938 II**, 5531. — 45. PFEIFFER, TH.: Die Möglichkeit eines teilweisen Ersatzes der Phosphorsäure durch die Kieselsäure in den Pflanzen. Mitt. dtsch. Landwirtschaftsges. **38**, 197 (1923). — 46. PREGL, F.: Die quantitative organische Mikroanalyse. Berlin: Springer 1923. — 47. RALEIGH, G. J.: Plant Physiol. **14**, 823 (1939). — 48. RAUTENBERGER, F., u. G. KÜHN: Vegetationsversuche im Sommer 1863. J. Landw. **9**, 359 (1864). — 49. RICHTER, O.: Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Kulturgräser. Fortschr. Landw. **1**, 638 (1926). — 50. SAUSSURE, TH.: Recherches sur la Végétation. Paris 1804. — 51. SCHARRER u. SCHROPP: Untersuchungen über die Wirkung der Kieselsäure und des Bors sowie einiger Spurenelemente auf das Wachstum von Erbse, Acker- und Sojabohne. Z. Pflanzenernähr u. Düngung **1**, 383 (1936). — 52. SCHWALBE, C. G.: Die Chemie der Cellulose, S. 391. 1911. — 53. SCHWARZ, R., u. F. STÖWENER: Kolloid-Beih. **19**, 171 (1924). — 54. SOMMER, A. L.: Studies concerning the essential nature of Al and Silica for plants growth. Univ. California Publ. Agric. Sci. **5**, 57 (1926). — 55. STOKLASA: Zur Biochemie der Weizenpflanze. Dtsch. landw. Presse **54**, 313 (1927). — 56. VIEHOEVER, A., and S. C. PRUSKY: Biochemistry of Silica. Amer. J. Pharmacy **110**, 1446 (1938). — 57. WAGNER, FR.: Die Bedeutung der Kieselsäure für das Wachstum einiger Kulturpflanzen. Phytopath. Z. **12**, 427 (1940). — 58. WEIHE, A.: Beiträge zur Kieselsäuredüngung. Z. Pflanzenernähr u. Düngung A **22**, 324 (1931). — 59. WIELER, A.: Über Membranstrukturen. Beih. Bot. Cbl. A **62**, 107 (1943). — 60. WILLSTÄTTER, LOBINGER u. KRAUT: Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 2027; **64**, 1709 (1931). — 61. WÖHLBIER, W.: Wachstumsversuche mit Kiesmehl (Naaki). Landw. Presse **60**, 424 (1933).

Dr. W. ENGEL, Berlin-Dahlem, Faradayweg 16,
Max Planck-Institut f. Silikatforschung.

Planta, Bd. 41, S. 391—395 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

ÜBER DIE STÄRKEBILDUNG IN DEN PLASTIDEN.

Von

K. PAECH* und E. KRECH.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Oktober 1952.)

In verschiedenen neueren Veröffentlichungen (DYAR, STAFFORD, STOCKING) werden über das Vorkommen der Stärkephosphorylase in den pflanzlichen Zellen Vorstellungen entwickelt, die nach unseren Erfahrungen den Sachverhalt nicht richtig treffen. Wir sehen uns deshalb veranlaßt, aus einer weiterreichenden Untersuchung einige Beobachtungen bekanntzugeben, die dazu beitragen können, die Lokalisation und Bedeutung der Phosphorylase in den *intakten* Zellen zu klären.

Im betonten Gegensatz zu den früheren histologischen Befunden von YIN und SUN, in deren Objekten die Phosphorylase ausschließlich in den Plastiden angetroffen worden war, soll nach den oben zitierten Arbeiten, die zum Teil vom fraktionierten Zentrifugieren „homogenisierter" Zellen Gebrauch machen, die Phosphorylase in ausdifferenzierten Zellen nicht an geformte Zellpartikel gebunden sein, weil sie im Zentrifugat und nicht im Niederschlag erscheint.

Daß die Stärkephosphorylase nach dem Zerstören der Zellen ein äußerst leicht wasserlösliches Enzym ist, das durch Zentrifugieren aus zerriebenem Gewebe abgetrennt werden kann, ging aus der Art ihrer Gewinnung von Anfang an hervor (HANES). In unseren Versuchen beobachteten wir, daß sich in Primärblättchen 14 Tage alter grüner Weizenpflanzen, die stärkefrei waren, nach Einlegen der Blattstückchen in 3%ige Glukose-1-Phosphat-Lösung (p_H 5,8) innerhalb von 6 Std bei Zimmertemperatur Stärke nur in den Chloroplasten der frisch angeschnittenen Zellen gebildet hatte. Isolierte Chloroplasten aus gleichartigen Blättern (Homogenisieren der Blätter im „Mixer" für 2 min bei 1200 Umdrehungen in 0,12 m KCl und Abtrennen durch Zentrifugieren) lassen jedoch Stärkebildung völlig vermissen, wenn sie ähnlich wie die Blattstücke mit Glukose-1-Phosphat-Lösung zusammengebracht werden. In den Chloroplasten angeschnittener Zellen der Blätter von anderen Arten *(Pisum sativum, Vicia faba)* tritt Stärkebildung oft unregelmäßig und in den einzeln herumschwimmenden Chloroplasten nie auf. Dieser

* Herrn Professor M. THOMAS, F.R.S., Department of Botany, King's College. Newcastle-upon-Tyne, danke ich herzlich für die Möglichkeit, in seinem Institut die ersten Versuche mit Glukose-1-Phosphat ausführen zu können.

Gegensatz ließ uns vermuten, daß die in den Chloroplasten lokalisierte Phosphorylase alsbald nach dem Zerstören des Protoplasten herausgelöst wird. Ähnliche Erscheinungen sind beim Fraktionieren tierischer Gewebe beobachtet worden, wo aus Mitochondrien schon unter milden Bedingungen Dehydrasen abgegeben werden (vgl. Lang, sowie Still und Kaplan). Nach Versuchen mit *Allium cepa*-Epidermen kommt Perner zu dem Schluß, daß die enzymatische Analyse der Fraktionen eines Homogenisates von Dauergeweben der Pflanzen nicht immer den für die intakte Pflanzenzelle charakteristischen Zustand wiedergibt.

Die unkritische Übernahme des für tierische Gewebe entwickelten fraktionierten Zentrifugierens auf pflanzliches Material führt hier noch eher zu Artefakten, weil die relativ große Menge wäßriger Lösung des Vakuolensaftes, der meist eine stärkere Azidität als der Protoplast aufweist und der mit dem Plasma beim Homogenisieren vermischt wird, zur Auslaugung der Zellorganelle führen muß. Bei tierischem Material besteht diese Gefahr wegen des prinzipiell anderen Baues der Zellen längst nicht in dem gleichen Ausmaß.

Die Untersuchung der Stärkebildung aus Glukose-1-Phosphat mit intakten Zellen wird durch die außerordentlich geringe Durchlässigkeit der normalen Plasmahaut für das Zuckerphosphat erschwert; auch durch Variieren der Azidität der Außenlösung läßt sich der Eintritt nicht merklich steigern. Man räumte dieses Hindernis bei histochemischen Untersuchungen bisher durch Zugabe von Toluol, Äther oder anderen Narkotika oder durch Gefrieren der Gewebe aus dem Wege, wodurch die Semipermeabilität des Protoplasten verlorengeht. Veränderungen der Plastidenstruktur, die bei so schweren Eingriffen nicht ausbleiben können, wurden jedoch nie erwogen oder berücksichtigt. Um solche Schädigungen zu dämpfen und soweit wie möglich hinauszuzögern, versuchten wir, uns die prämortale Permeabilitätssteigerung zunutze zu machen. Wenn man frische Schnitte oder abgezogene Epidermen von Blättern im Dunkeln bei 20—22° C auf 3%iger Glukose-1-Phosphat-Lösung (ungepuffert oder bei p_H 6) schwimmen läßt, so sterben sie gewöhnlich innerhalb von etwa 24 Std ab. In Kontrollen wurde Glukoselösung oder Glukose + Phosphatlösung geboten, auf denen keine Stärke gebildet wird. Während dieses langsamen Überganges vom normalen zum toten Zustand erhöht sich offenbar die Permeabilität (bzw. Intrabilität) für Glucose-1-Phosphat, ohne daß schon eine bemerkenswerte „Auslaugung" der Plastiden stattfände. In solchen Ansätzen erscheint Stärke vor allem in den Plastiden (Chloroplasten der Schließzellen, Leukoplasten der Epidermiszellen) und nur in kleinen Körnchen außerhalb der Plastiden, manchmal deutlich in ihrer nächsten Umgebung (vgl. Abb. 2), was den Eindruck erweckt, daß die Phosphorylase aus ihnen herausgetreten ist. Unsere Abb. 1 zeigt das Ergebnis eines Versuches mit der

abgezogenen Epidermis von *Calanthe hybridum* nach Jodfärbung. Auch die Schließzellen waren zu Beginn des Versuches stärkefrei. Meist finden sich dabei Zellen, deren Plastiden voll Stärke gestopft sind, neben solchen, die kaum Stärke gebildet haben, was DYAR auch bei Wurzelhaubenzellen beobachtet hat und was wahrscheinlich auf dem ver-

Abb. 1. Epidermis von *Calanthe hybridum* nach Behandlung mit Glukose-1-Phosphat und Jodzusatz.

schieden schnellen Absterben der Zellen beruht. Die relativ großen Leukoplasten in den Epidermiszellen von Orchideen und Commelinaceen eignen sich besonders gut zur Demonstration der Stärkebildung aus Glukose-1-Phosphat in Plastiden. Unter natürlichen Bedingungen ist in den Epidermen keiner der untersuchten Pflanzen Stärke gefunden worden. Über die Bedeutung der Fähigkeit zur Stärkebildung in den Epidermen, die normalerweise gar nicht in Erscheinung tritt, soll erst später berichtet werden.

Als weiteres Beispiel, an dem die Lokalisierung der Stärkephosphorylase in den Plastiden besonders deutlich wird, seien etiolierte Kartoffeltriebe genannt, in denen aus Glukose-1-Phosphat Stärke bevorzugt, d. h. am schnellsten und intensivsten, in der Stärkescheide gebildet wird. Die Abb. 2 gibt einen Ausschnitt aus der Stärkescheide eines solchen etiolierten Triebes nach Jodzusatz wieder. Auch dabei wurden frische, stärkefreie Schnitte auf die Glukose-Phosphatlösung gelegt.

Es läßt sich also mit relativ einfachen Versuchen zeigen, daß die Leuko- und Chloroplasten Stärkephosphorylase enthalten und in ungeschädigten Zellen offenbar der einzige Sitz dieses Enzyms sind. Die

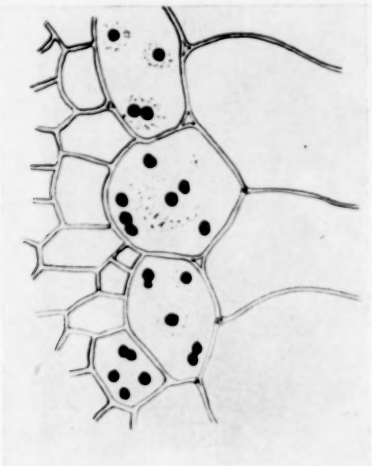


Abb. 2. Ausschnitt aus der Stärkescheide eines etiolierten Kartoffeltriebes nach Behandlung des Schnittes mit Glukose-1-Phosphat und Jodzusatz.

Abb. 1—3 bei Stocking können zwanglos auch so gedeutet werden, daß Stärke vor allem in den Chloroplasten und daneben in kleineren Körnern wahrscheinlich durch herausgelöste Phosphorylase gebildet wurde. Es besteht also kein Grund zu einer so schwerwiegenden Annahme, daß die Stärkesynthese in den Blättern prinzipiell auf einem anderen Wege verlaufen müsse, als mit der aus Speicherorganen gewonnenen Phosphorylase in vitro nachgewiesen worden ist. Wenn die Phosphorylase wirklich im zytoplasmatischen Teil der Blattzellen vorhanden wäre, wie einige der oben zitierten Arbeiten nachgewiesen haben wollen, dann wäre es sehr verwunderlich, warum unter den Bedingungen der lebenden Zelle nicht auch im Zytoplasma Stärke auftreten sollte. Die Chloroplastenmembran, mit deren Existenz zu rechnen ist (Granick und Porter), wird bei der Isolierung der Plastiden und der Zerstörung des Protoplasten so verändert, daß die Phosphorylase leicht in die Suspensionsflüssigkeit diffundiert.

Ob in meristematischen Zellen Phosphorylase vor allem in den Zellkernen vorkommt, wie DYAR angibt, muß noch dahingestellt bleiben. In ihren Abbildungen erscheinen auch die dicht um die Zellkerne gescharten Leukoplasten mit Stärke gefüllt zu sein. In den Kernen ausgewachsener Zellen wurde weder von DYAR noch von uns Phosphorylase entdeckt. In den sich teilenden Initialen des Spaltöffnungsapparates der Kotyledonen von *Helianthus annuus*, *Impatiens Balsamina* und von Rotkohlkeimlingen ließ sich Phosphorylase ausnahmslos in den Plastiden und nicht in Kernen nachweisen.

Literatur.

DYAR, M. T.: Amer. J. Bot. **37**, 786 (1950). — GRANICK, S., and K. R. PORTER: Amer. J. Bot. **34**, 545 (1947). — HANES, C. H.: Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **129**, 174 (1940). — LANG, K.: 2. Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol. Chem. **1952**, S. 24. — PERNER, E.: Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 235 (1952). — STAFFORD, H. A.: Physiol. Plantarum **4**, 696 (1951). — STILL, J. L., and E. H. KAPLAN: Exper. Cell. Res. **1**, 403 (1950). — STOCKING, C. R.: Amer. J. Bot. **39**, 283 (1952). — YIN, H. C., and C. N. SUN: Plant Physiol. **24**, 103 (1949).

Prof. Dr. K. PAECH, Tübingen, Wilhelmstraße 5.

Planta, Bd. 41, S. 396—435 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. H. Borriss).

DIE WIRKUNG DER ALKALI- UND ERDALKALIIONEN AUF DAS WURZELWACHSTUM UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES IONENANTAGONISMUS UND SEINER ABHÄNGIGKEIT VON MILIEUFAKTOREN.

Von

Eike Libbert.

Mit 24 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Oktober 1952.)

Abschnitt I.

Einleitung.

Unsere Kenntnisse über den physiologischen Ionenantagonismus setzen sich aus einer Unzahl von an verschiedenen Objekten und mit verschiedenen Methoden durchgeführten Einzelbeobachtungen zusammen. Es existieren zwar gute zusammenfassende Darstellungen, so daß in bezug auf die Geschichte des Problems auf diese verwiesen werden kann (Rubinstein 1928, Eiselsberg 1937, für die amerikanische Literatur vgl. Eisenmenger 1927); aber eine lückenlose experimentelle Behandlung auch nur eines Ausschnittes aus dem Gesamtproblem wird noch vermißt. Unter Beschränkung auf sämtliche Alkalien und Erdalkalien sollen in der vorliegenden Arbeit alle zwischen diesen Ionen möglichen Zweisalzkombinationen über den gesamten wirksamen Konzentrationsbereich geprüft werden (Abschnitt IV). Die erwähnte Vielzahl kleinerer Arbeiten brachte es mit sich, daß bis heute nicht einmal Klarheit darüber besteht, zwischen welchen Ionen Antagonismen bzw. Entgiftungen (zur Definition dieser Begriffe s. unten) bestehen und zwischen welchen nicht. Die herrschenden Anschauungen schwanken zwischen den beiden Extremen, daß entweder jedes Ion jedes andere in seiner Giftigkeit beeinträchtigen kann (Osterhout), oder daß nur einwertige Ionen durch mehrwertige entgiftet werden können (Kaho). Hier Klarheit zu schaffen, ist Aufgabe dieser Arbeit.

Infolge verschiedener Versuchsanordnung waren bei den Untersuchern des Ionenantagonismus die Milieubedingungen (Licht, Temperatur, Substrat) verschieden. Es ist eine weitere Aufgabe dieser Arbeit, zu entscheiden, ob eine Variation der Milieubedingungen Einfluß auf die antagonistischen Erscheinungen hat (Abschnitt V).

Schließlich bestehen, wie in der Diskussion näher ausgeführt werden soll, zwei entgegengesetzte Meinungen über die Erklärung der antagoni-

stischen Erscheinungen: Als Ursache des Antagonismus wird eine Ionenwirkung auf die Plasmaoberfläche angesehen (Abdichtungstheorie) oder eine direkte Ionenwirkung auf die Plasmakolloide (vgl. die Gegenüberstellung der beiden Ansichten bei SPEK 1928). An Hand der gewonnenen Ergebnisse soll geprüft werden, ob eine der beiden Theorien allein zur Erklärung ausreicht (Abschnitt VI).

Daß der Untersuchung des Ionenantagonismus eine eingehende Prüfung der Wirkung der Einzelsalze vorausgehen muß, liegt auf der Hand (Abschnitt III).

Zur Beurteilung der Frage, ob ein Antagonismus vorliegt oder nicht, wurden von OSTERHOUT (z. B. 1918) graphische Verfahren zur Abtrennung des additiven Effekts entwickelt. Von deren Anwendung soll hier abgesehen werden. Zur Beurteilung wird der strengere Maßstab OSTERHOUTs angelegt: "We are therefore save in saying that antagonism exists if the effect" (= Giftigkeit, Hemmung des Wachstums) "of any combination is less than that produced by the most strongly acting substance in the absence of the others (and at the same concentration at which it exists in the combination)" (OSTERHOUT 1918). Dieser Definition schließe ich mich an mit dem Unterschiede, daß ich unter den beschriebenen Bedingungen nicht von Antagonismus, sondern von Entgiftung sprechen werde, während ich als Antagonismus, mich an HÖBER (1926) anlehnend, nicht die Entgiftung eines Ions durch ein anderes (s. OSTERHOUT), sondern die gegenseitige Entgiftung zweier Ionen bezeichne; ich spreche also von einem Antagonismus, wenn der Hemmeffekt einer Zweisalzkombination geringer ist als der von dem *weniger* stark hemmenden Einzelsalz verursachte (bei derselben Konzentration, in der das Einzelsalz in der Zweisalzlösung vorliegt).

In der vorliegenden Arbeit wird das Wachstum von Keimwurzeln als Test für Giftwirkungen und Entgiftungen verwendet. Zur Frage, wieweit direkte Beeinflussung des Streckungs- oder des meristematischen Wachstums eine Rolle spielt, wird in der Diskussion der Ergebnisse Stellung genommen werden. Die Vor- und Nachteile des Arbeitens mit Wurzeln gegenüber der Verwendung von Sproßteilen sind bekannt und brauchen hier nicht diskutiert zu werden. Die entscheidende Tatsache, daß das Ionenverhältnis in der Wurzel sich dem der Außenlösung mehr nähert als das im Sproß, trifft zwar für schädigende Lösungen weniger zu als für unschädliche, gibt aber doch den Ausschlag, dann mit Wurzeln zu arbeiten, wenn der Einfluß eines Ions in Abhängigkeit von seiner Konzentration untersucht werden soll.

Abschnitt II.

Methodik.

Es wurde eine Methode verwandt, die sich an den Kressewurzeltest (MOEWUS 1949)[1] anlehnt, sich von ihm jedoch dadurch unterscheidet,

[1] Die zahlreichen Bedenken gegen den Kressewurzeltest sind bekannt, lassen sich jedoch nicht auf die vorliegende Untersuchung übertragen, da die Kressewurzeln hier nicht als Testobjekt für Wuchsstoffe dienen.

daß die Versuchspetrischalen keine Filter enthielten (Begründung s. Abschnitt V), sondern die Keimlinge in einer dünnen Lösungsschicht gehalten wurden, daß weiterhin gegenüber dem Kressewurzeltest Keim- und Versuchszeit sowie Anfangslänge der Versuchswurzeln verändert waren. Testobjekt war *Lepidium sativum*, Versuche zur Bestätigung der Ergebnisse wurden mit *Agrostemma githago* durchgeführt. Die Versuche erstreckten sich über die Jahre 1950—1952. Die verwendeten Samen stammten aus dem Botanischen Garten in Greifswald, es wurde mit Samen der Ernte 1948 und, ab Herbst 1951, der Ernte 1949 gearbeitet, bei *Agrostemma* nur mit der Ernte 1949.

Die Unterschiede zum Kressewurzeltest sind folgende: Die zur Anzucht dienenden Keimschalen enthielten nur 1 Rundfilter, 4 cm^3 Aqua bidest. sowie 70 bis 80 Samen. Die Temperatur während der Keimung (und, sofern nicht anders angegeben, auch während des Versuches) betrug 23°. Die Keimzeit betrug 30 Std, bei *Agrostemma* 38 Std, die Wurzellänge zu Beginn des Versuches 8 mm (*Lepidium*, Schnellwachser) bzw. 10 mm (*Agrostemma*). Vor dem Übertragen in die Versuchsschalen wurden die Keimlinge 2mal in Aqua bidest. gespült. Die Versuchsschalen enthielten 10 Keimlinge in 9 cm^3 der zu prüfenden Lösung, jedoch kein Filter. Die dünne Lösungsschicht bedeckte den Schalenboden, die Wurzeln dagegen nicht vollständig. Die Versuchszeit betrug in der Regel 27 Std (*Lepidium*) bzw. 32 Std (*Agrostemma*). Sollte noch eine 2. Messung gemacht werden, wurde die 1. bei Rotlicht (über Millimeterpapier, auf das die Schalen gestellt wurden) durchgeführt, ohne daß die Schalen geöffnet wurden. Die Keimwurzeln von *Lepidium* wuchsen erfreulich gerade, bei *Agrostemma* allerdings weniger: Hier mußten sie häufig zur Messung mit der Pinzette gestreckt werden.

Die verwendeten Salze waren: pro analysi: NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $BaCl_2$, $NaNO_3$, KNO_3, $Ba(NO_3)_2$; purissimum: $SrCl_2$, $Mg(NO_3)_2$; Erg. B. 6: LiCl. RbCl und CsCl erhielt ich aus dem Chemischen Institut der Universität Greifswald, letzteres trug den Vermerk 99,9%, während das RbCl einen entsprechenden Vermerk nicht aufwies[1]. Es sei schon hier vermerkt, daß bei der Verwendung dieser Salze kein Versuchsergebnis darauf hinwies, daß es durch Verunreinigungen beeinträchtigt sei. Die übrigen Salze stammten von den Firmen Merck, Schering, Riedel de Haën und Laborchemie Apolda. Alle Lösungen wurden mit Aqua bidest. hergestellt.

Zur Auswertung wurde aus den 10 Wurzellängen einer Schale (oder, da in der Regel je 2 Schalen mit gleicher Lösung beschickt wurden, aus den 20 Wurzellängen zweier Schalen) das Mittel genommen. Extrem zurückgebliebene Keimlinge (selten mehr als 1 Keimling je Schale) blieben unberücksichtigt. Die Ergebnisse waren reproduzierbar. Jeder Versuch wurde wiederholt und erst dann als positiv betrachtet, wenn der Wiederholungsversuch dasselbe Ergebnis zeigte.

Die statistische Sicherung erfolgte nach PÄTAU (1943). In den meisten Fällen war P weit kleiner als 0,0027. Nur in einem einzigen Falle (S. 410) wird ein Versuch herangezogen werden, in dem $P > 0{,}0027$ ($= 0{,}004$) ist. — Die Ergebnisse wurden nach Möglichkeit in Kurven dargestellt. Diese wurden (mit Ausnahme des Nullwertes) in logarithmischem Maßstab gezeichnet. Stets gibt die Ordinate die erreichte

[1] Herrn Dr. HECHT möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung der Präparate meinen herzlichen Dank sagen.

Wurzellänge in Millimetern an. Die untere horizontale Linie ist die Wurzellänge zu Beginn des Versuches. In Tabellen bedeuten die Zahlen ebenfalls die Wurzellänge in Millimetern. — Insgesamt wurde das Wachstum von über 50000 Wurzeln verfolgt und gemessen.

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Variation der Versuchszeit. Diese wurde bei Einsalzlösungen der Chloride von Na, K, Mg, Ca, Ba vorgenommen. Messungen nach verschiedenen Zeiten (13, 27, 43 Std) ergaben prinzipiell übereinstimmende Resultate. Der Zuwachs nach 13 Std ist allerdings gering. Unterschiede sind nicht statistisch gesichert ($P > 0{,}0027$).

2. Verdünnungsversuche. Aqua bidest., das ebenso wie die Stammlösungen der verwendeten Salze längere Zeit im Versuchsraum (Dunkelkammer) gestanden hatte, wurde mit frischem, doppelt destillierten Wasser verschieden stark „verdünnt". Alle „Verdünnungen" lieferten gleiche Wachstumswerte.

3. Glaskontrollen. Der Einfluß des Glases, das eventuell durch Abgabe von Bor oder Alkaliionen störend wirken könnte, wurde untersucht. Es wurden zunächst Kontrollversuche in Schalen aus nicht borhaltigem Glase durchgeführt. Dabei wurde, da auch (aus Jenaer Glas) doppelt destilliertes Wasser Bor enthalten könnte, zur Herstellung der Lösungen einfach und doppelt destilliertes Wasser verwendet. In allen Schalen aus verschiedenem Glas, die gleiche Lösungen enthielten, wurden die gleichen Wurzellängen erreicht. Dasselbe gilt für gleiche Salzlösungen, die mit Aqua dest. bzw. bidest. angesetzt wurden.

4. Paraffinkontrollen. Zur weiteren Prüfung des Einflusses des Glases wurden Petrischalen mit einer dünnen Paraffinschicht ausgegossen. Wegen der geringen Benetzbarkeit der Paraffinschicht mußte in diesen Versuchen 24 cm^3 Lösung statt 9 cm^3 verwendet werden, die Kontrollen ohne Paraffin enthielten dann auch 24 cm^3, da mit steigender Flüssigkeitsmenge das Wachstum schlechter wird (Einfluß der mangelnden Durchlüftung?). Die Ergebnisse aller Versuche waren von denen des vorigen Ansatzes nicht verschieden: In paraffinierten und nicht paraffinierten Schalen, die gleiche Lösungen enthielten, wurden die gleichen Wurzellängen erreicht. Damit ist bewiesen, daß aus dem Glase in Lösung gegangene Substanzen nicht vorhanden sind bzw. keinen Einfluß auf meine Versuchsergebnisse haben.

5. Aqua dest. Ein eingehender Vergleich zwischen der Wirkung destillierten und doppelt destillierten Wasser zeigte, daß das Wachstum in ersterem stets etwas besser ist (z. B. erreichte Wachstumslänge in 27 Std: 19,1 gegenüber 17,6 mm). Da auch Aqua bidest. nicht völlig rein ist, ist anzunehmen, daß völlig reines Wasser noch ungünstiger wirkt. Die Verwendung von Aqua bidest. ist also ratsam.

Abschnitt III.

Wachstum in Einsalzlösungen.

Das Wachstum in Einsalzlösungen wurde geprüft. Die Konzentrationen betrugen m/10—m/100000, in Ausnahmefällen m/3—m/300000, gestaffelt wurden sie annähernd in Dreierpotenzen (m/10, m/30, m/100 usw.), zuweilen enger. Zu jedem Versuch wurde eine Kontrolle (Aqua bidest., 2 Schalen) angesetzt, denn trotz größtmöglicher Gleichartigkeit der äußeren Bedingungen schwankten die Werte der Wasserkontrollen

(und mit ihnen gleichsinnig die sämtlicher Salzlösungen) von Versuch zu Versuch. Die an *Lepidium* erhaltenen Ergebnisse zeigen die Abb. 1 und 2.

Jede Kurve der Abb. 1 entstand aus Mittelwerten von 5—8 gleichen Einzelversuchen, die Kurven von LiCl, RbCl und CsCl aus 2—3 Versuchen. Die einzelnen

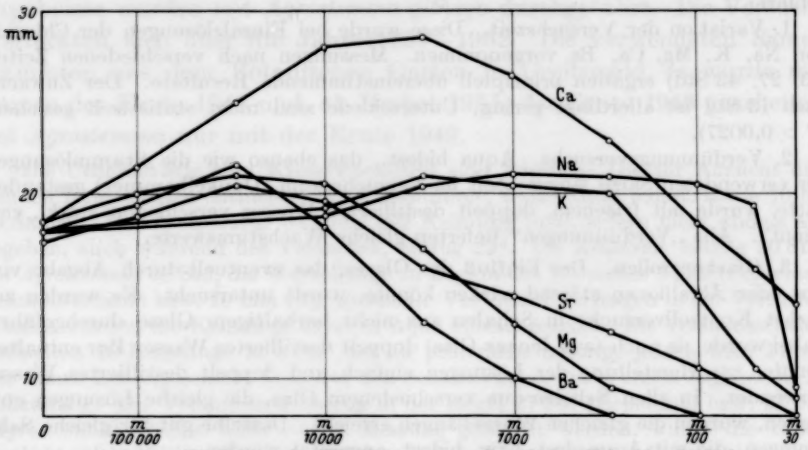


Abb. 1. Wachstum in Einsalzlösungen, *Lepidium*, Chloride, 27 Std.

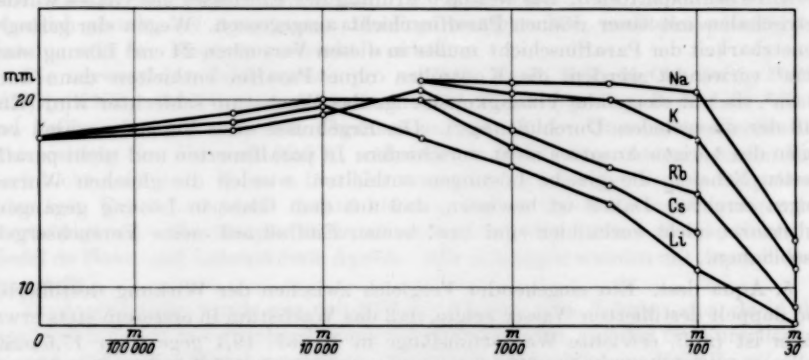


Abb. 2. Wachstum in Einsalzlösungen, *Lepidium*, Chloride, 27 Std.

Kurven jeder Abbildung sind unmittelbar vergleichbar, da zahlreiche Vergleichsversuche angesetzt wurden, die das Wachstum in gleichen bzw. verschiedenen Konzentrationen verschiedener Salze aufzeigten.

An Nitraten wurden verwendet $NaNO_3$, KNO_3, $Ba(NO_3)_2$. Die Ergebnisse, die den mit Chloriden gewonnenen sehr ähneln, werden im Text beschrieben. Versuche mit *Agrostemma* zeigt Abb. 3. Auch hier sind die einzelnen Kurven direkt vergleichbar.

Beim Vergleich von Wirkungen verschiedener Ionen wurden Lösungen verwandt, die dieselbe Anzahl der zu vergleichenden Ionen enthalten, das sind im vorliegenden Falle äquimolare Mengen. Daß bei deren Vergleich bei verschiedenwertigen Salzen die Anzahl der Anionen verschieden ist, ist ein tragbarer Nachteil.

Die erhaltenen Ergebnisse sind folgende:

1. Die Wachstumskurve jedes Salzes ist eine Optimumkurve. Die Wirkung jedes Salzes setzt sich also aus einer fördernden und einer hemmenden Komponente zusammen.

2. Die Kurven für Chloride und Nitrate stimmen im Prinzip überein. KNO_3 und $NaNO_3$ wirken giftiger als die entsprechenden Chloride.

3. Die Kurven für *Lepidium* und *Agrostemma* stimmen im Prinzip überein, *Agrostemma* erweist sich jedoch schädlichen Ioneneinflüssen gegenüber durchweg als resistenter als *Lepidium*. Das liegt nicht daran, daß die *Agrostemma*-Samen größer sind als die von *Lepidium* (Durch-

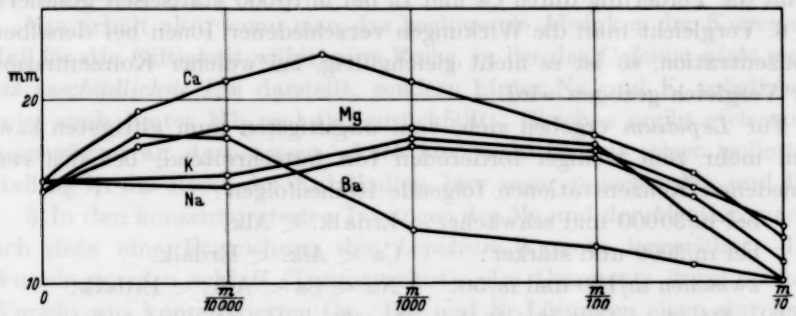


Abb. 3. Wachstum in Einsalzlösungen, *Agrostemma*, Chloride, 32 Std.

schnittsgewicht eines Samens: *Agrostemma* 9,58 mg, *Lepidium* 2,52 mg), im Verhältnis zur Samenmasse also eine geringere absolute Zahl von Ionen vorhanden ist. Es wurden Versuche mit *Agrostemma* durchgeführt, bei denen die Schalen nicht je 10, sondern je 3 Keimlinge enthielten, die insgesamt etwa das gleiche Gewicht haben wie 10 *Lepidium*-Keimlinge. Die erreichten Wurzellängen differierten nur unbedeutend gegenüber denen der Abb. 3. Auf einzelne Unterschiede zu den Ergebnissen an *Lepidium* wird weiter unten eingegangen werden.

4. Die Kurvengipfelpunkte liegen mit Ausnahme der Calciumchlorid-Optimalwerte, die weit höher liegen, gleich hoch (über LiCl und CsCl vgl. unter 5). Das gibt zu der Anschauung Anlaß, daß es sich bei den untersuchten Ionen um 2 verschiedene fördernde Wirkungen handelt: *Bei allen Ionen um eine unspezifische Förderung, beim Calcium außerdem um eine spezifische Förderung.* Dabei rufen die zweiwertigen Ionen in geringeren (etwa 10mal niedrigeren) Konzentrationen als die einwertigen eine Förderung (Entgiftung) hervor. Auch Aqua dest. wirkt (Abschnitt II) durch ihren geringen Ionengehalt entgiftend gegenüber Aqua bidest., allerdings nicht in vollem Ausmaße: Der Ionengehalt der Aqua dest. ist unteroptimal.

5. Bei K, Na, Mg und Sr (bei *Agrostemma* auch bei Ba) verharren die Wachstumskurven in ihrem Gipfel wenigstens über 3 Konzentra-

tionsstufen (also eine Zehnerpotenz) auf demselben Niveau, dem *Normalniveau*, mit welchem Ausdruck ich den höchsten Wert bezeichnen möchte, der ohne Hinzukommen der spezifischen Calciumwirkung erreicht werden kann. Diese Beobachtung stützt die unter 4 angeführte Anschauung. Beim Ba (*Lepidium*) und Rb unterbleibt der waagerechte Verlauf der Kurve im Gipfel, da bereits kurz nach Überschreiten der zur Erreichung des Normalniveaus nötigen Konzentration die giftige Ba- bzw. Rb-Wirkung einsetzt. Bei Li und Cs endlich, den giftigsten Alkalien, wird das Normalniveau nicht erreicht, da die dazu nötige Konzentration (etwa m/3000 bei den Alkalien) bereits schädigend wirkt. Trotzdem bleibt die Förderung durch Cs und Li bei m/10000 statistisch gesichert.

6. Vergleicht man die Wirkungen verschiedener Ionen bei derselben Konzentration, so ist es nicht gleichgültig, bei welcher Konzentration der Vergleich gezogen wird.

Für *Lepidium* ergeben sich, vom ungiftigsten zum giftigsten bzw. vom mehr zum weniger fördernden Ion fortschreitend, bei den verschiedenen Konzentrationen folgende Reihenfolgen:

bei m/30000 und schwächer: Erdalk. < Alk.
bei m/3000 und stärker: Ca < Alk. < Erdalk.
zwischen m/100 und m/50: Na < Ca < Alk. < Erdalk.

Die Überlegenheit der Erdalkalien über die Alkalien bei geringen Konzentrationen und damit die Überschneidung der Kurven ist durch die Darlegung unter 4 verständlich, ebenso die 1. Überkreuzung der Ca- mit der Na-Kurve; die 2. Überschneidung dieser beiden Kurven kann auf eine Verschiedenartigkeit der Giftwirkungen der beiden Ionen hinweisen.

Innerhalb der Erdalkalien lauten die Reihenfolgen:

bei m/3000 und schwächer: Ca < Mg < Sr < Ba,
bei m/1000 und stärker: Ca < Sr < Mg < Ba.

Die Unterschiede zwischen Sr und Mg sind sowohl bei m/3000 als auch bei m/1000 statistisch gesichert, das Überschneiden der beiden Kurven kann, ebenso wie bei Ca/Na, als Hinweis auf verschiedenartige Mechanismen der Giftwirkungen des Mg und des Sr betrachtet werden.

Innerhalb der Alkalien lauten die Reihenfolgen unabhängig von der Konzentration:

$$Na < K < Rb < Cs < Li.$$

Bei *Agrostemma* verschwindet die geringere Schädlichkeit des Na gegenüber dem K (und Ca), bei m/10 ist Na sogar giftiger als K.

Im übrigen sind die Reihenfolgen bei *Agrostemma* dieselben wie bei *Lepidium*, soweit sie geprüft wurden. Doch fällt bei *Agrostemma* die — im Vergleich zu den übrigen Ionen — geringere Giftigkeit des Mg auf. Erst bei m/30 zeigt sich eine stärkere Magnesium- als Alkaligiftigkeit.

7. Die *Dosis tolerata* oder toxica (GASSNER, s. PIRSCHLE 1932), eine Konzentration, von der an ein Salz schädlich wirkt, wird durch das beginnende Absinken der Wachstumskurve gekennzeichnet. Bei *Lepidium* liegt sie für $BaCl_2$ zwischen m/30000 und m/10000, für $MgCl_2$, $SrCl_2$, LiCl zwischen m/10000 und m/3000, für RbCl und CsCl zwischen m/3000 und m/1000, für KCl zwischen m/300 und m/100, für NaCl zwischen m/100 und m/50. Wenn man beachtet, daß bei Ca zu der allen Ionen eigenen Wirkung noch eine stark fördernde spezifische Wirkung hinzukommt, und von dieser absieht, liegt für $CaCl_2$ die Dosis tolerata zwischen m/3000 und m/1000. Das ist allerdings eine sehr ungenaue Angabe.

Man erhält also, wenn man das beginnende Absinken der Kurve als Maß für die Giftigkeit wählt, eine Reihe, in der das *Calcium nicht mehr das unschädlichste Ion* darstellt, sondern hinter Na und K, möglicherweise auch hinter Rb und Cs, zurückfällt. Gleiches ergibt sich noch ausgeprägter an *Agrostemma*. Auch hier rückt Ca aus seiner isolierten Stellung in die Reihe der Erdalkalien, hier sogar zwischen Mg und Ba.

8. In den konzentriertesten Lösungen des Mg und der Alkalien macht sich stets eine Erweichung der *Lepidium*-Wurzeln bemerkbar. Die Wurzeln werden schlaff (Turgorverlust). Im Gegensatz dazu machen Wurzeln aus konzentrierten Ca-, Ba- und Sr-Lösungen einen durchaus elastischen Eindruck. Bei einigen Wurzeln führt die Erweichung zu einem charakteristischen Absterbebild. Die Wurzeln sind unter Verschleimung der Streckungszone an der Spitze abgeknickt. In stärkeren (m/3000) Ba-, Sr- und Ca-Lösungen zeigen sich dagegen charakteristische Krümmungserscheinungen der Wurzeln. Das deutet darauf hin, daß die Giftwirkungen von Ca, Sr und Ba einerseits, von Mg und den Alkalien andererseits verschiedene sein können. — Bei *Agrostemma* wird eine Erweichung der Wurzeln und ein Abknicken der Spitze nicht beobachtet, die Krümmungen unter dem Einfluß von $BaCl_2$ dagegen sind hier sehr deutlich.

9. Zur vergleichenden Messung des Hypokotyls eignet sich die angewandte Methode nicht, da dieses während der Versuchsdauer gekrümmt bleibt. Es fällt jedoch auf, daß in Lösungen, die eine starke Wachstumsdepression der Wurzeln bewirken, das Hypokotylwachstum unterschiedlich ist: Durch KCl- bzw. NaCl-Lösungen wird es gegenüber dem Wurzelwachstum deutlich gefördert, durch Erdalkalien dagegen werden Wurzel- und Hypokotylwachstum in gleicher Weise beeinträchtigt. Damit werden die Ergebnisse erneut bestätigt, die mit anderer Methodik von BORRISS (1937, 1939) bei seinen Untersuchungen über die primären Salzwirkungen auf das Streckungswachstum des Hypokotyls verschiedener Keimlinge erhalten wurden.

Abschnitt IV.

Wachstum in Zweisalzlösungen.

Nachdem die im vorigen Abschnitt geschilderten Erkenntnisse über das Verhalten der Wurzeln in Einsalzlösungen gewonnen worden sind,

wird mit der Prüfung der Antagonismen begonnen. (Zur Definition der Begriffe „Antagonismus" und „Entgiftung" vergleiche man Abschnitt I.) Dabei wird eine konstant bleibende Konzentration des einen Salzes mit verschiedenen Konzentrationen eines zweiten kombiniert. Wenn trotz der höheren Gesamtkonzentration in einer Zweisalzlösung stärkeres Wachstum auftritt als in der Einsalzlösung, wird von einer Entgiftung gesprochen. Wenn sich dieselbe Erscheinung beim Vertauschen der beiden Salze wiederholt, wird von Antagonismus die Rede sein („gegenseitige" Entgiftung).

A. Die Kombination Kalium-Calcium.

Als Beispiel eines Antagonismus wurde an *Lepidium* das Salzpaar $CaCl_2$-KCl eingehend untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 4a und b[1] zusammengestellt, dieselbe Abbildung zeigt auch einige an *Agrostemma* gewonnene Ergebnisse. Die Kurven sind die Ergebnisse von 29 Einzelversuchen an *Lepidium;* die Abszisse gibt die Konzentration des einen Antagonisten, jede Kurve eine bestimmte Konzentration des anderen an. (In derselben Weise sind alle Abbildungen über Zweisalzkombinationen dargestellt.)

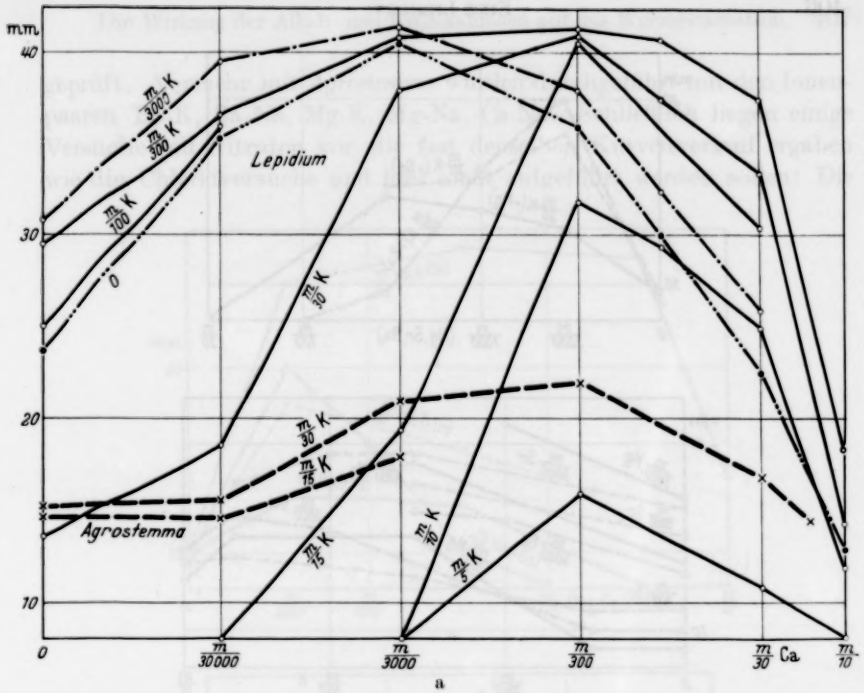
Jeder K-Wachstumswert kann durch Ca-Zusatz vergrößert werden. Dabei handelt es sich einerseits um die spezifische Ca-Förderung, andererseits um eine anders zu verstehende Entgiftung. Zum Beispiel ist die vollständige, vom Absterben der Wurzeln bis zum optimalen Wachstumswert gehende Entgiftung von m/15 K nicht als bloße Förderung des Wachstums zu verstehen. — Jede Ca-Konzentration, die auf dem absteigenden Ast der Ca-Kurve liegt, wird durch K vollständig oder teilweise entgiftet. Verbesserungen der Wirkung von Ca-Konzentrationen, die auf dem ansteigenden Ast der Ca-Kurve beobachtet werden, können Folgen der Erhöhung der Gesamtkonzentration sein (Addition der Wirkungen der beiden Salze) und sind daher nicht als Entgiftungen zu werten. — Die Entgiftung von K durch Ca geschieht leichter als die von Ca durch K: Man vergleiche die m/5, m/10 Ca-Kurven mit den m/5, m/10 K-Kurven. Die Ca-Konzentrationen, die zu deutlicher K-Entgiftung nötig sind, sind geringer als die zur Ca-Entgiftung nötigen K-Konzentrationen: Man vergleiche die Wirkung eines m/3000 oder m/30000 Ca-Zusatzes mit der eines m/3000 oder m/30000 K-Zusatzes.

Beobachtungen über Antagonismen zwischen Ca und K (auch bezüglich des Wurzelwachstums: z. B. HANSTEEN 1910, PIRSCHLE 1932) sind so allgemein verbreitet, daß ein Eingehen auf die einzelnen Arbeiten überflüssig erscheint.

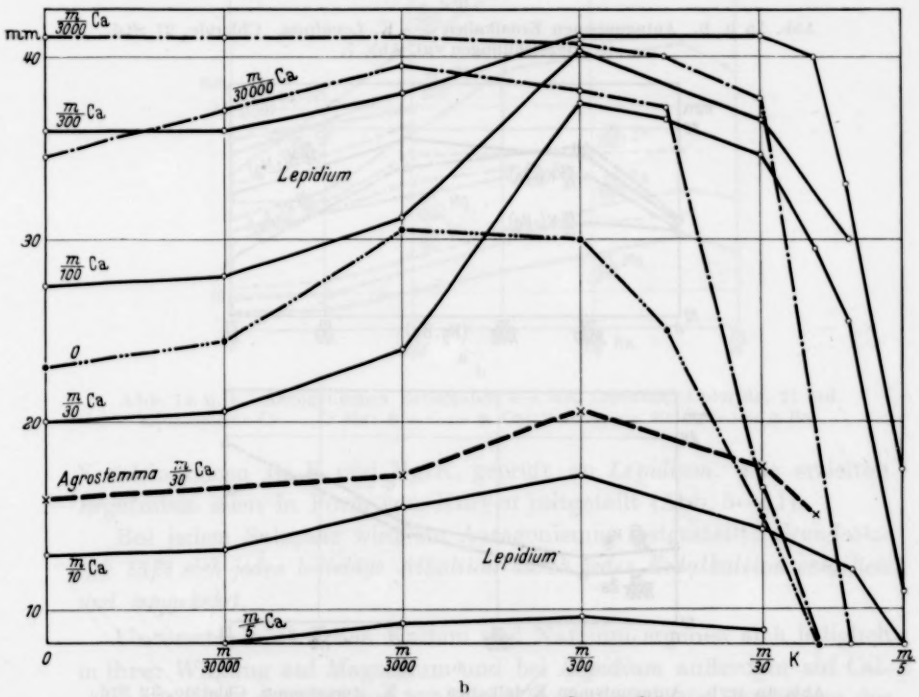
B. Kombinationen von Alkalien mit Erdalkalien.

Die Chloride aller Alkalien wurden mit den Chloriden aller Erdalkalien kombiniert und in ihrer Wirkung auf die *Lepidium*-Wurzel

[1] Man beachte bei allen Abbildungen, in denen gleichzeitig Ergebnisse an *Lepidium* und *Agrostemma* dargestellt sind, daß für *Lepidium* die untere Horizontale (die 8 mm-Linie), für *Agrostemma* aber die 10 mm-Linie die Wurzellänge zu Beginn des Versuches darstellt.

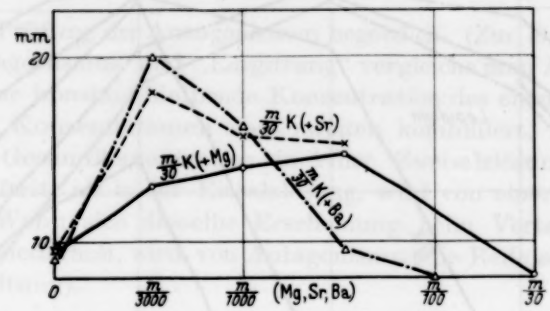


a

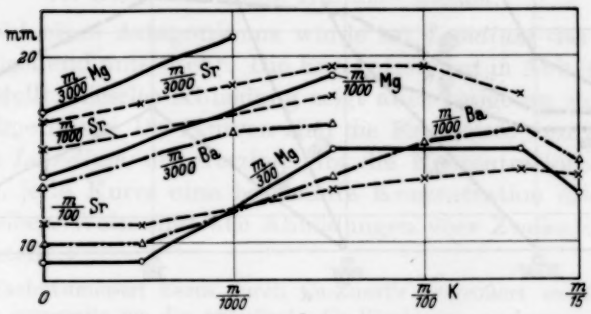


b

Abb. 4a u. b. Antagonismus Ca ⟷ K, Chloride. ○——○ } ○– · –○ } *Lepidium*, 43 Std;
● – · · – ● *Lepidium*, Einsalzlösung von Ca bzw. K, 43 Std; × - - - - - × *Agrostemma*, 32 Std.

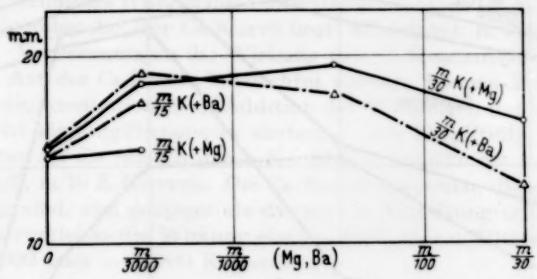


a

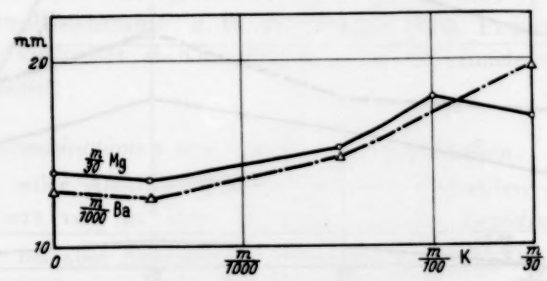


b

Abb. 5a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ K, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 7.



a



b

Abb. 6a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ K, *Agrostemma*, Chloride, 32 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 7.

geprüft. Versuche mit *Agrostemma* wurden durchgeführt mit den Ionenpaaren Ba-K, Ba-Na, Mg-K, Mg-Na, Ca-Na. Schließlich liegen einige Versuche mit Nitraten vor, die fast denselben Kurvenverlauf ergaben wie die Chloridversuche und hier nicht aufgeführt werden sollen: Die

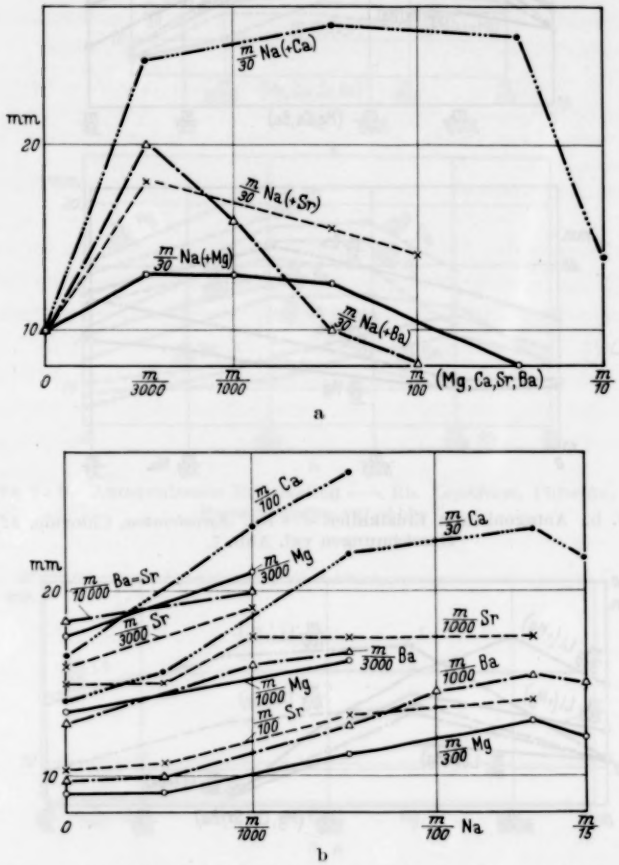


Abb. 7a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ Na, *Lepidium*, Chloride, 27 Std.
Erdalkalien: ○——○ Mg; ● — · · · — ● Ca; × · · · · · · × Sr; △ — · — △ Ba.

Kombinationen Ba-K und Mg-K, geprüft an *Lepidium*. Die erzielten Ergebnisse seien in Form von Kurven mitgeteilt (Abb. 5—11).

Bei jedem Salzpaar wird ein Antagonismus festgestellt: *Grundsätzlich läßt sich jedes beliebige Alkaliion durch jedes Erdalkaliion entgiften und umgekehrt.*

Unterschiede zwischen Kalium und Natrium ergeben sich lediglich in ihrer Wirkung auf Magnesium und bei *Lepidium* außerdem auf Calcium: K wirkt hier stärker entgiftend (s. unten). Die Entgiftung des

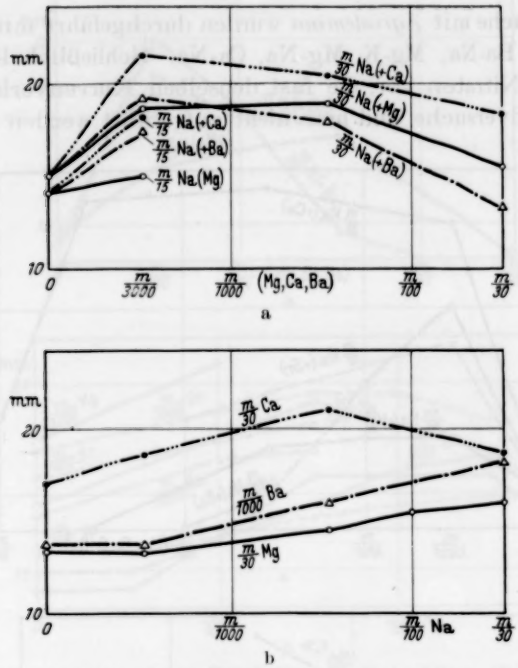


Abb. 8a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ Na, *Agrostemma*, Chloride, 32 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 7.

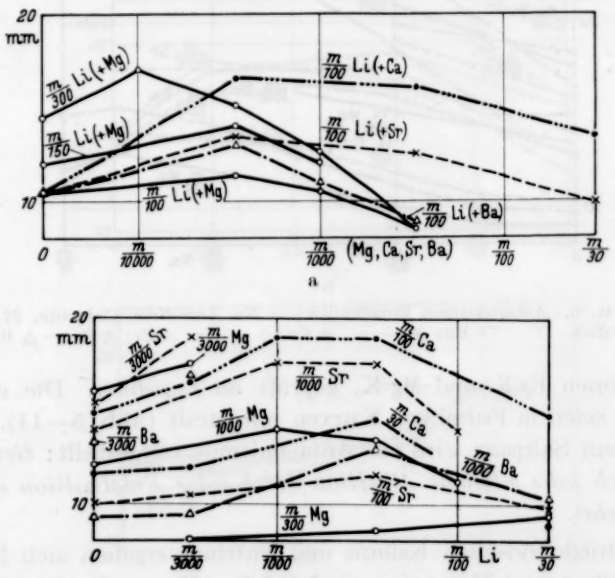
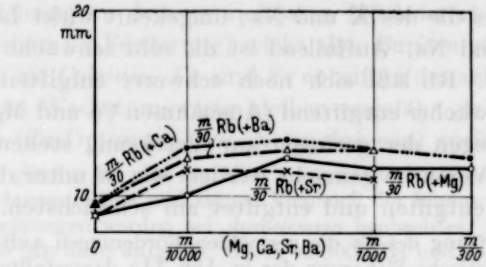
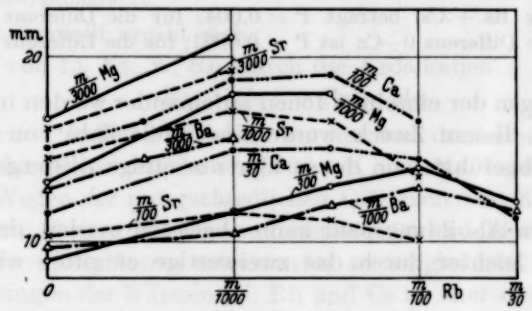


Abb. 9a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ Li, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 7.

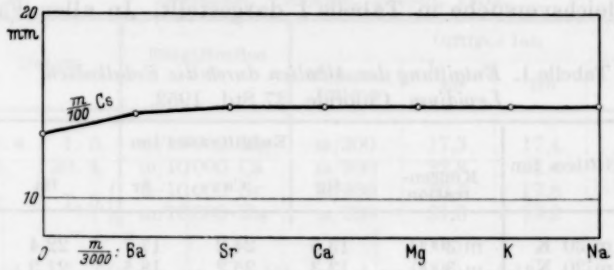


a

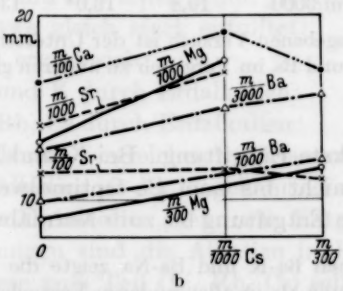


b

Abb. 10a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ Rb, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 7.



a



b

Abb. 11a u. b. Antagonismen Erdalkalien ⟷ Cs, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. Bezeichnungen (Abb. 11b) vgl. Abb. 7. Abb. 11a zeigt außerdem die Entgiftungen Na, K → Cs.

Li ist schwächer als die des K und Na; umgekehrt wirkt Li schwächer entgiftend als K und Na. Auffallend ist die sehr schwache Entgiftung Li → Mg (s. unten). Rb läßt sich noch schwerer entgiften und wirkt im allgemeinen schwächer entgiftend (Ausnahmen Ca und Mg, s. unten). Mit Cs konnten wegen der geringen zur Verfügung stehenden Menge (0,8 g) nur wenige Versuche gemacht werden. Cs ist unter den Alkalien am schwersten zu entgiften und entgiftet am schwächsten.

Da bei der Entgiftung des Cs die geringsten Förderungen auftreten, sei an dieser Stelle die statistische Sicherung der in Abb. 11a dargestellten Ergebnisse angegeben (nach PÄTAU 1943). Für die Differenz zwischen 0 (reine Cs-Lösung) und Ba (genauer Ba + Cs) beträgt $P = 0{,}004$; für die Differenz 0—Sr ist $P < 0{,}0002$; für die Differenz 0—Ca ist $P = 0{,}0003$; für die Differenz 0—Mg ist $P < 0{,}0002$.

Die Wirkungen der einzelnen Ionen aufeinander werden im folgenden verglichen. Zu diesem Zweck wurde eine große Zahl von Vergleichsversuchen durchgeführt, von denen hier nur einige wiedergegeben werden können.

1. Aus jedem Abbildungspaar kann abgelesen werden, daß stets das einwertige Ion leichter durch das zweiwertige entgiftet wird als umgekehrt.

2. Mg wirkt schwächer entgiftend auf die Alkalien als Sr, dieses wiederum schwächer als Ba. Schwieriger ist es, Ca in diese Reihe einzuordnen, und zwar wegen der spezifischen Ca-Förderung. Dazu sind einige Vergleichsversuche in Tabelle 1 dargestellt. In allen Fällen er-

Tabelle 1. *Entgiftung der Alkalien durch die Erdalkalien.* *Lepidium*, Chloride, 27 Std, 1952.

Datum	Giftiges Ion	Entgiftendes Ion					
		Konzentration	Mg	Ca	Sr	Ba	0
12./13. 2.	m/30 K	m/3000	13,5	24,2	17,7	22,4	—
13./14. 2.	m/30 Na	m/3000	13,3	25,2	18,5	21,3	—
24./25. 3.	m/30 Rb	m/10000	10,2	12,2	11,5	12,1	9,6
6./7. 3.	m/100 Li	m/3000	10,8	16,0*	13,5	14,6*	10,5

* In dem hier wiedergegebenen Versuch ist der Unterschied zwischen den Entgiftungen des Li durch Ca und Ba im Vergleich zu anderen gleichartigen Versuchen recht groß.

folgt durch Ca die stärkste Entgiftung. Bei K und Na geht jedoch die Entgiftung durch Ca nicht bis zum Ca-Optimalwert (etwa 28,5 mm), während durch Ba[1] eine Entgiftung bis zum Normalniveau erreicht wird.

[1] In den Kombinationen Ba-K und Ba-Na zeigte die Wurzellänge im allgemeinen eine größere Streuung als in allen anderen Versuchen, der mittlere Fehler war auffallend hoch.

In Beziehung zu dem erreichbaren Höchstwert (also unter Abzug der spezifischen Ca-Förderung) wirkt also *Barium stärker entgiftend auf die Alkalien als Calcium*. Ca und Sr entgiften danach etwa gleich stark, die erreichten Wachstumswerte bleiben ungefähr gleich weit hinter dem Höchstwert (Ca-Optimum bzw. Normalniveau) zurück.

Ähnliches gilt für Rb und Li. Mit Cs wurde nur ein Versuch durchgeführt, der in Abb. 11a dargestellt ist und keinen Vergleich der Ionenwirkungen zuläßt. Dieselben Erscheinungen werden bei *Agrostemma* beobachtet: m/15 Alkalien werden durch m/3000 Mg nicht entgiftet, durch m/3000 Ba und m/3000 Ca gleich stark. Die Entgiftung durch Ba erreicht fast das Normalniveau, die durch Ca bleibt weit unter dem Ca-Optimalwert.

Zusammengefaßt ergibt sich:
Entgiftung von Li, Na, K, Rb durch die Erdalkalien:

$$\mathrm{Ba} > \mathrm{Ca}\,? = \mathrm{Sr} > \mathrm{Mg}. \qquad (1)$$

3. Die verschiedenen Alkalien werden von demselben Erdalkaliion mit unterschiedlicher Stärke entgiftet. K und Na werden gleich stark entgiftet. Wegen der unterschiedlichen Giftigkeit von K und Na einerseits und den übrigen Alkalien andererseits ist es schlecht möglich, die Entgiftungen dieser Ionen miteinander zu vergleichen. Ein Vergleich der Entgiftungen der 3 Ionen Li, Rb und Cs ist eher möglich und kann an Hand der Werte der Tabelle 2 durchgeführt werden.

Tabelle 2. *Entgiftung von Li, Rb, Cs durch die Erdalkalien.* *Lepidium*, Chloride, 27 Std, 1952.

Datum	Entgiftendes Ion	Giftiges Ion			
		Konzentration	Li	Rb	Cs
30. 4. / 1. 5.	m/10000 Mg	m/300	17,3	17,4	16,7
29. / 30. 4.	m/10000 Ca	m/300	22,8	22,4	21,6
6. / 7. 5.	m/10000 Sr	m/300	20,1	17,8	16,1
	m/10000 Ba	m/300	21,0	19,2	18,4

Obwohl Li giftiger ist als Rb, wird es auf gleich hohe oder höhere Werte entgiftet. Rb und Cs werden (unter Beachtung ihrer unterschiedlichen Giftigkeit) etwa gleich stark entgiftet.

Zusammengefaßt ergibt sich:
Entgiftung von Na und K durch Erdalkalien: $\mathrm{Na} = \mathrm{K}$
Entgiftung von Li, Rb, Cs durch Erdalkalien: $\mathrm{Li} > \mathrm{Rb} = \mathrm{Cs}$ (2)

4. Schwieriger als die vergleichende Erfassung der Wirkungen der Erdalkalien auf die Alkalien ist der umgekehrte Vergleich der Wirkungen der Alkalien auf die Erdalkalien, denn zur Entgiftung stärker schädigender Erdalkalilösungen sind die Alkalien in Konzentrationen erforderlich, in denen diese zum Teil (Li, Rb, Cs) selbst mehr oder weniger giftig sind. Arbeitet man dagegen in schwächeren Konzentrationen,

wird der mittlere Fehler zu groß, um einwandfreie Ergebnisse erzielen zu können. Trotzdem sind aus den Versuchsreihen, von denen einige in Tabelle 3 angeführt sind, interessante Schlüsse zu ziehen.

Tabelle 3. *Entgiftung von Erdalkalien durch Alkalien.* *Lepidium*, Chloride, 27 Std, 1952.

Datum	Giftiges Ion	Entgiftendes Ion						
		Konzentration	Li	Na	K	Rb	Cs	0
15./16. 4.	m/300 Mg	m/300	8,0	8,9	13,4	12,2	10,4	7,0
22./23. 4.	m/100 Ca	m/1000	20,0	23,2	28,9	19,9	19,0	16,5
16./17. 4.	m/100 Sr	m/300	12,2	13,0	13,1	11,5	9,8	10,5
16./17. 4.	m/1000 Ba	m/300	13,0	13,2	13,1	12,0	11,9	9,8

Es ergeben sich auffallende Verschiedenheiten in den Reihen. Bei der Entgiftung des Mg ist das Auffallendste die geringe entgiftende Wirksamkeit der Alkalien mit niedriger Ordnungszahl (Na, Li) im Vergleich zu der Wirksamkeit der Alkalien mit hoher Ordnungszahl (Rb, Cs).

Dieses Verhältnis ist unabhängig von dem durch die Eigengiftigkeit der m/300 Alkalien entstehenden Fehler, denn Na, das in der Konzentration m/300 völlig ungiftig ist, entgiftet schwächer als das weit giftigere Cs.

Bei der Entgiftung des Ba ist das Verhältnis umgekehrt.

Nun mag zwar die Überlegenheit des Li über Cs und Rb darauf beruhen, daß Li selbst leichter von den Erdalkalien entgiftet wird (vgl. unter 3.), jedoch ist das unwahrscheinlich. Tabelle 2 zeigt, wie hoch die m/300 Alkalien entgiftet werden, so daß für die Werte der Tabelle 3 tatsächlich die Giftigkeit des Erdalkaliions der begrenzende Faktor zu sein scheint.

Bei der Entgiftung des Ca und des Sr erscheinen dann die „Übergangsreihen" zwischen der Mg- und der Ba-Reihe.

Zusammengefaßt ergibt sich:

$$\left.\begin{array}{l}\text{Entgiftung des Mg durch die Alkalien: } K > Rb > Cs > Na > Li\\ \text{Entgiftung des Ca durch die Alkalien: } K > Na > Li = Rb > Cs\\ \text{Entgiftung des Sr durch die Alkalien: } K = Na > Li > Rb > Cs\\ \text{Entgiftung des Ba durch die Alkalien: } K = Na = Li > Rb, Cs\end{array}\right\} \quad (3)$$

Frei von dem durch die Alkaligiftigkeit bedingten Fehler ist jedenfalls auch das Verhältnis K zu Na: Mg und Ca werden von K stärker entgiftet, auf Sr und Ba wirken beide Ionen gleich stark. Bei *Agrostemma* läßt sich Gleiches beobachten, hier allerdings nur bei Mg.

5. Schließlich ist zu entscheiden, welche Erdalkalien von demselben Alkaliion besser und welche schlechter entgiftet werden. Dieser Vergleich kann wegen der unterschiedlichen Giftigkeit der Erdalkalien nur unter Vorbehalt gezogen werden; das Ca muß ganz ausgeschlossen werden. Einige Vergleichsversuche sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4. *Entgiftung von Mg, Sr, Ba durch die Alkalien. Lepidium*, Chloride, 27 Std, 1952.

Datum	Entgiftendes Ion	Giftiges Ion				
		m/1000 Mg	m/1000 Sr	m/3000 Ba	m/3000 Mg	m/3000 Sr
6./7. 5.	m/1000 Li	14,6	18,8	—	—	—
	m/3000 Li	—	—	18,1	18,1	20,3
30. 4./1. 5.	m/1000 Na	16,7	18,5	—	—	—
	m/3000 Na	—	—	—	22,2	20,0
7./8. 5.	m/1000 K	19,0	17,4	16,3	—	—
	m/3000 K	—	—	16,0	—	—
5./6. 5.	m/1000 Rb	18,2	16,8	15,9	—	—
	m/3000 Rb	—	—	15,6	—	—
5./6. 5.	m/1000 Cs	18,6	16,6	15,1	—	—
	m/3000 Cs	—	—	15,4	—	—

Durch K, Rb und Cs läßt sich stets Mg leichter entgiften als Sr und Ba. Die Entgiftung des Sr durch K (Rb, Cs) und die des Ba durch K (Rb, Cs) sind etwa gleich stark. Anders verhält sich Li: Durch Li wird Sr stärker entgiftet als Mg, auch in Konzentrationen, in denen Sr selbst giftiger ist als Mg (m/3000). Die Entgiftung durch Na nimmt eine Übergangsstellung ein. Hier werden alle 3 Ionen gleich stark entgiftet: Bei m/1000 (Mg giftiger als Sr) wird Sr auf höhere Werte entgiftet, bei m/3000 (Sr giftiger als Mg) wird Mg auf höhere Werte entgiftet.

Zusammengefaßt ergibt sich:

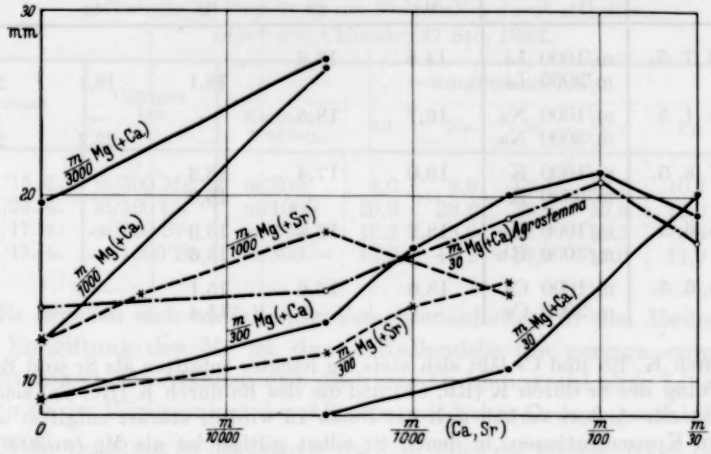
$$\left.\begin{array}{l}\text{Entgiftung der Erdalkalien durch Li:} \quad \text{Sr, Ba} > \text{Mg} \\ \text{Entgiftung der Erdalkalien durch Na:} \quad \text{Sr, Ba} = \text{Mg} \\ \text{Entgiftung der Erdalkalien durch K, Rb, Cs:} \quad \text{Mg} > \text{Sr, Ba}\end{array}\right\} \quad (4)$$

Aus der umfangreichen Literatur über Antagonismus bzw. Entgiftungen zwischen Erdalkalien und Alkalien seien hier nur die wichtigsten Arbeiten ohne Kommentar angeführt: Osterhout 1906a, b, 1907a, b, 1909, 1922; Kaho 1921, 1926; Pirschle 1932; Eiselsberg 1937.

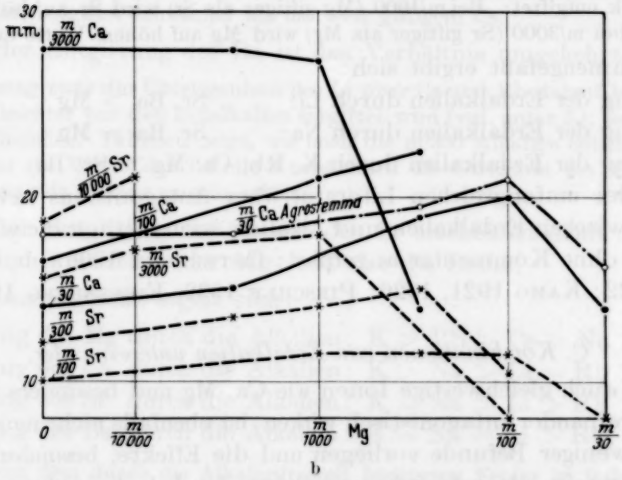
C. Kombinationen von Erdalkalien untereinander.

„Daß auch gleichwertige Ionen wie Ca, Mg und besonders die Alkalien untereinander antagonistisch wirken, ist ebenfalls nicht neu, obgleich darüber weniger Befunde vorliegen und die Effekte, besonders bei den Alkalien, meist als schwach und daher fraglich bezeichnet werden" (Pirschle). Zur Sicherung der fraglichen Effekte wurden zunächst sämtliche Erdalkalien untereinander kombiniert, d. h. an *Lepidium* wurden folgende Chloridpaare getestet: Mg-Ca, Mg-Sr, Mg-Ba, Ca-Sr, Ca-Ba, Sr-Ba. Außerdem wurde an *Lepidium* das Nitratpaar Mg-Ba untersucht, an *Agrostemma* die Chloridpaare Mg-Ca, Mg-Ba, Ca-Ba. Die Ergebnisse zeigen die Abb. 12—14. Die nicht dargestellten Versuche mit Nitraten lieferten wieder dieselben Ergebnisse wie die entsprechenden Versuche mit Chloriden.

Magnesium verhält sich gegenüber Calcium, Strontium und Barium wie ein Alkaliion: Es steht mit diesen Erdalkalien in antagonistischem Verhältnis. Zwischen den Ionen Ca, Sr und Ba bestehen keine antagonistischen



a



b

Abb. 12a u. b. Antagonismen zwischen Erdalkalien, Chloride. ●——● Antagonismus Ca ⟷ Mg, *Lepidium*, 27 Std; ○— · —○ Antagonismus Ca ⟷ Mg, *Agrostemma*, 32 Std; *------* Antagonismus Sr ⟷ Mg, *Lepidium*, 27 Std.

Verhältnisse, sondern nur Entgiftungen, dergestalt, daß stets das schwerere durch das leichtere Ion, nicht umgekehrt, entgiftet wird. (5)

Wiederum wurden die Wirkungen der einzelnen Ionen aufeinander verglichen; von den Vergleichsversuchen kann auch hier nur eine kleine Auswahl gegeben werden.

1. Aus den einzelnen Kurvenpaaren der Abb. 12—14 lassen sich folgende Beziehungen ablesen: Ca und Mg wirken etwa gleich stark aufeinander. Ba und Sr wirken stärker auf Mg als umgekehrt Mg auf Sr und Ba.

2. Aus Abb. 13b ist zu entnehmen, daß Mg und Sr gleich stark entgiftend auf Ba wirken. Abb. 14b zeigt, daß Ca weit stärker entgiftet, dies könnte auf der spezifischen Ca-Förderung beruhen; jedoch ist eine

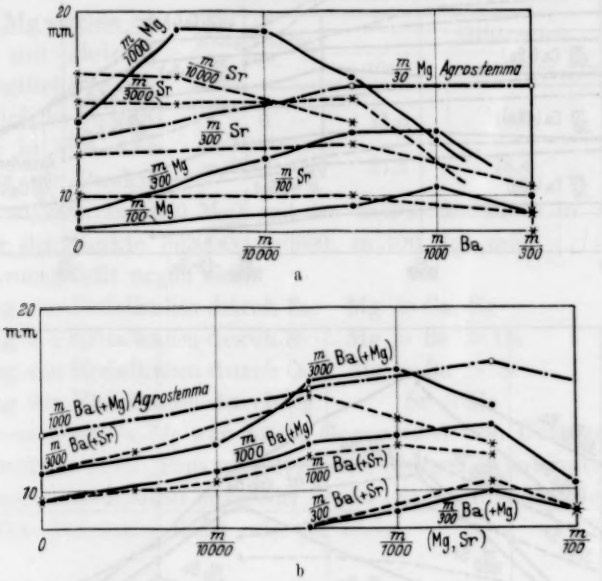


Abb. 13a u. b. Antagonismen bzw. Entgiftung zwischen Erdalkalien, Chloride. ●——● Antagonismus Mg ⟷ Ba, *Lepidium*, 27 Std; ○ – · – ○ Antagonismus Mg ⟷ Ba, *Agrostemma*, 32 Std; ✳- - - - - - ✳ Entgiftung Sr → Ba, *Lepidium*, 27 Std.

solche Deutung bei derartigen Differenzen unwahrscheinlich. Sr wird (Abb. 14b und 12b) von Ca stärker entgiftet als von Mg, hier dürfte aber die spezifische Ca-Förderung zur Erklärung ausreichen. Ba wirkt auf Sr gar nicht entgiftend. Ca wird lediglich von Mg entgiftet. Für Mg schließlich, von dem schon betont wurde, daß es sich den übrigen Erdalkalien gegenüber verhielte wie ein Alkaliion, gilt dieselbe Reihe wie für die Alkalien. Sie ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5. *Entgiftung von Mg durch Erdalkalien.* *Lepidium*, Chloride, 27 Std, 1952.

Datum	Giftiges Ion	Entgiftendes Ion			
		Konzentration	Ca	Sr	Ba
14./15. 2.	m/300 Mg	m/3000	12,9	11,5	13,1

Beachtet man die spezifische Ca-Förderung, so ist auch hier Ba dem Ca an entgiftender Wirksamkeit überlegen.

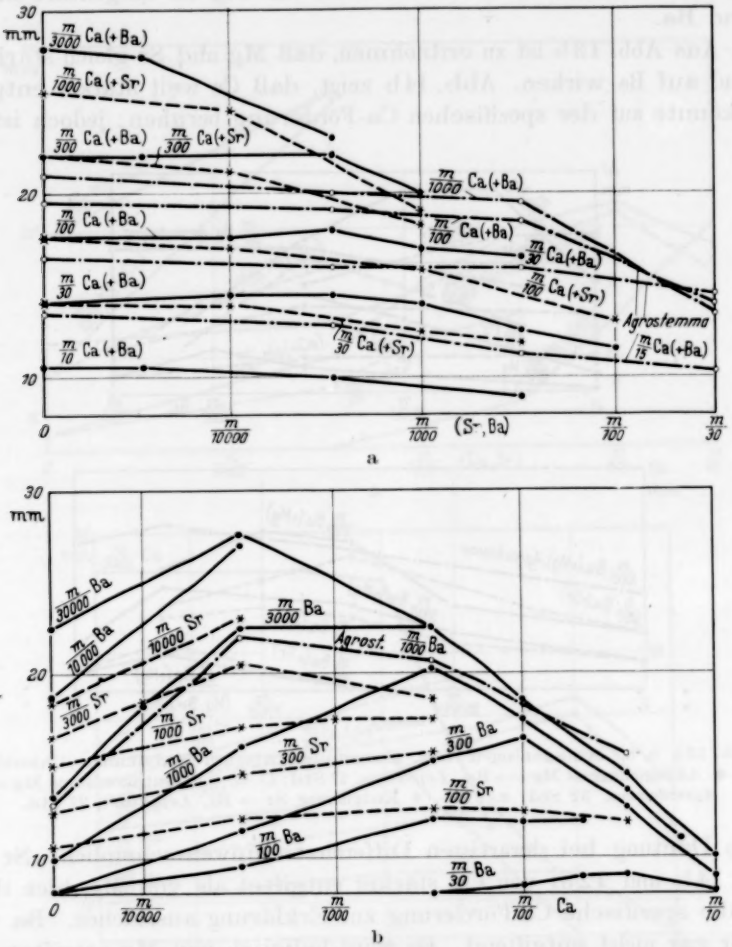


Abb. 14a u. b. Entgiftungen zwischen Erdalkalien, Chloride. ● ——— ● Entgiftung Ca → Ba, *Lepidium*, 27 Std; ○ – · – ○ Entgiftung Ca → Ba, *Agrostemma*, 32 Std; * · · · · · · * Entgiftung Ca → Sr, *Lepidium*, 27 Std.

Zusammengefaßt ergibt sich:

Entgiftung des Ba durch die übrigen Erdalkalien: Ca > Sr, Mg
Entgiftung des Sr durch die übrigen Erdalkalien: Ca = Mg ≫ Ba } (6)
Entgiftung des Ca durch die übrigen Erdalkalien: Mg ≫ Sr, Ba

Entgiftung des Mg durch die übrigen Erdalkalien: Ba > Ca ? = Sr (7)

3. Schließlich sei untersucht, welche Erdalkalien von demselben Erdalkaliion stärker, welche schwächer entgiftet werden; Ca muß wieder

ausgenommen werden. Durch Ba wird nur Mg entgiftet. Durch Sr werden Mg und Ba entgiftet, und zwar ersteres stärker: Zum Beispiel wird m/300 Mg, das etwas giftiger ist als m/1000 Ba, durch m/1000 Sr weit stärker entgiftet als m/1000 Ba durch m/3000 Sr. — Durch Ca wird Mg stärker entgiftet als Ba, dieses wieder stärker als Sr. Diese Beziehungen sind aus den Abb. 12a und 14b zu entnehmen, ein Vergleichsversuch ist in Tabelle 6 angeführt.

Tabelle 6. *Entgiftung von Erdalkalien durch Ca. Lepidium*, Chloride, 27 Std, 30. 4./1. 5. 1952.

Entgiftendes Ion	Giftiges Ion		
	m/1000 Mg	m/1000 Sr	m/3000 Ba
0	11,5	14,6	13,4
m/10000 Ca	—	—	18,3
m/3000 Ca	27,1	18,4	22,2

Durch Mg werden Sr und Ba mit gleicher Stärke entgiftet, wie z. B. der Vergleich der m/1000 Ba-Kurve in Abb. 13b (und zwar der Punkte m/10000, m/3000, m/1000 Mg) mit der m/300 Sr-Kurve in Abb. 12b (und zwar der Punkte m/3000, m/1000, m/300 Mg) zeigt.

Zusammengefaßt ergibt sich:

Entgiftung von Erdalkalien durch Ba: $Mg \gg Ca, Sr$
Entgiftung von Erdalkalien durch Sr: $Mg > Ba \gg Ca$
Entgiftung von Erdalkalien durch Ca: $Mg > Ba > Sr$ } (8)

Entgiftung von Erdalkalien durch Mg: $Sr = Ba$ (9)

Das Ionenpaar Ca-Mg war häufig Gegenstand von Untersuchungen (z. B. HANSTEEN 1910, PIRSCHLE 1932), die übrigen Kombinationen von Erdalkalien untereinander entweder selten (Sr-Mg und Ba-Mg: OSTERHOUT 1907b, PIRSCHLE 1932) oder gar nicht.

D. Kombinationen von Alkalien untereinander.

Ob ein Antagonismus zwischen einwertigen Ionen besteht, zumal zwischen Natrium und Kalium, ist eine vieldiskutierte Frage. Auf dem botanischen Sektor existiert an überzeugenden positiven Ergebnissen nur ein einziger Versuch OSTERHOUTs (1909). Dieser Autor erhielt bei einer Versuchsdauer von 30 Tagen an *Triticum* in 0,12 mol KCl- bzw. NaCl-Lösung eine Wurzellänge von 67 bzw. 55 mm, in einer 0,12 mol KCl + NaCl-Lösung (10:3) eine Wurzellänge von 185,5 mm. Von den übrigen Untersuchern wird der Effekt, auch von HANSTEEN (1910), der den OSTERHOUTschen Versuch am gleichen Objekt wiederholte, stets nur als „ganz schwach, kaum merkbar" (HANSTEEN) bezeichnet (vgl. auch PIRSCHLE 1932).

In 23 Versuchen prüfte ich die *Kombination KCl-NaCl* an *Lepidium* und *Agrostemma*. Die Ergebnisse sind in Abb. 15 dargestellt. Es war *weder ein Antagonismus noch eine Entgiftung* festzustellen. Auch zwischen den übrigen Alkalien wurde mit folgenden Ergebnissen jede Kombination

geprüft (Abb. 16—18): *Na und K lassen sich durch andere Alkalien nicht entgiften. Umgekehrt werden aber Li, Rb und Cs durch Na und K entgiftet*, und zwar durch beide Ionen in gleicher Stärke. Eine Ausnahme bildet (bei *Lepidium*) das Lithium: Es wird von Na auffallend stark, von K gar nicht entgiftet. Die Ergebnisse an *Agrostemma* (Abb. 18a) machen es jedoch wahrscheinlich, daß es sich bei diesem auffälligen Verhalten um einen artspezifischen Sonderfall handelt. — Die Entgiftung des Rb durch K (bzw. Na) ist etwa gleich stark wie die des Cs durch K (bzw. Na). *Zwischen den Alkalien Li, Rb, Cs finden weder Antagonismen noch Entgiftungen statt.*

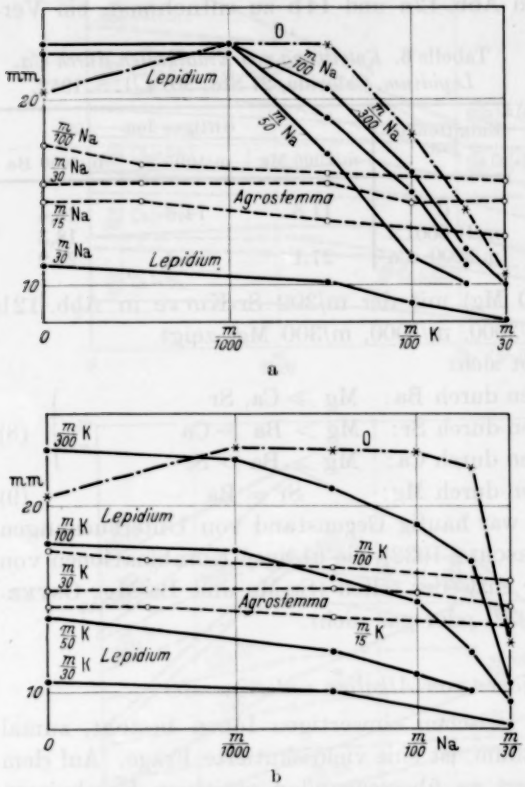


Abb. 15a u. b. Kombination K-Na, Chloride. ●——● *Lepidium*, 27 Std; * — · — * *Lepidium*, Einsalzlösungen von K bzw. Na, 27 Std; ○ - - - - - ○ *Agrostemma*, 32 Std.

Einige Literatur zur Kombination K-Na wurde bereits angeführt, über die übrigen Kombinationen liegen vor allem Beobachtungen aus dem zoologischen Sektor vor.

E. Kombination von Ionen in optimaler Konzentration.

Hier seien Versuchsreihen erwähnt, in denen es festzustellen galt, ob 1. der Ca-Optimalwert durch Zugabe irgendeines Salzes zu überschreiten sei, ob 2. in Ca-freien Lösungen ein Überschreiten des Normalniveaus möglich sei. Aus den Abbildungen ist nirgends ein derartiges Überschreiten zu entnehmen. Das Ergebnis aller Versuche, von denen 2 Beispiele in den Tabellen 7 und 8 wiedergegeben sind, ist folgendes:

1. Das *Ca-Optimum* ist der höchste, auch in Zweisalzlösungen, erreichbare Wachstumswert. 2. Das *Normalniveau* ist der höchste in Ca-freien Lösungen, auch von zwei Salzen, erreichbare Wachtumswert.

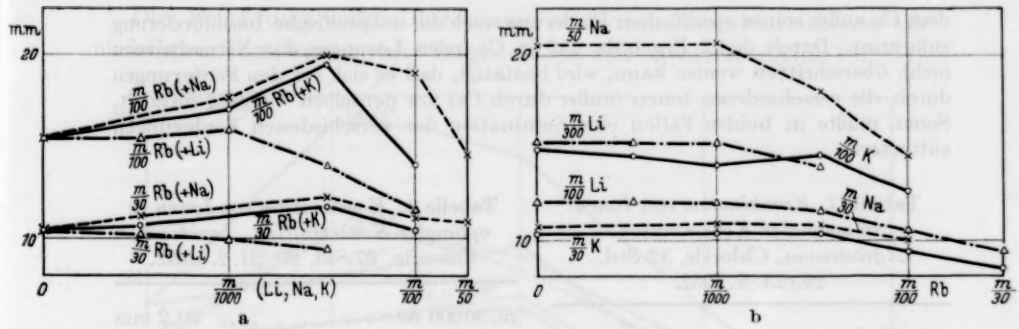


Abb. 16a u. b. Kombinationen von Alkalien untereinander, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. × · · · · · · × Entgiftung Na → Rb; ○——○ Entgiftung K → Rb; △ — · — △ Kombination Li — Rb.

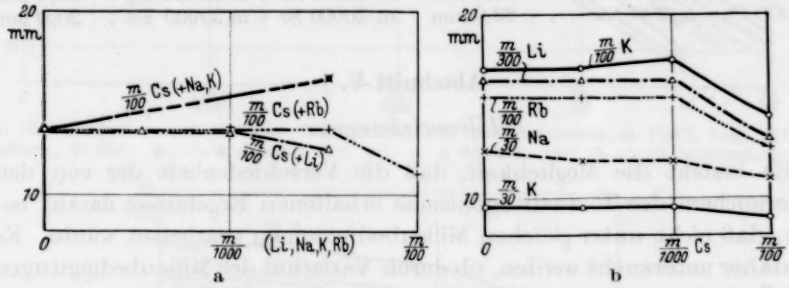


Abb. 17a u. b. Kombinationen von Alkalien untereinander, *Lepidium*, Chloride. 27 Std. × · · · · · · × Entgiftung Na → Cs; ○——○ Entgiftung K → Cs; △ — · — △ Kombination Li — Cs; + — · · · — + Kombination Rb — Cs.

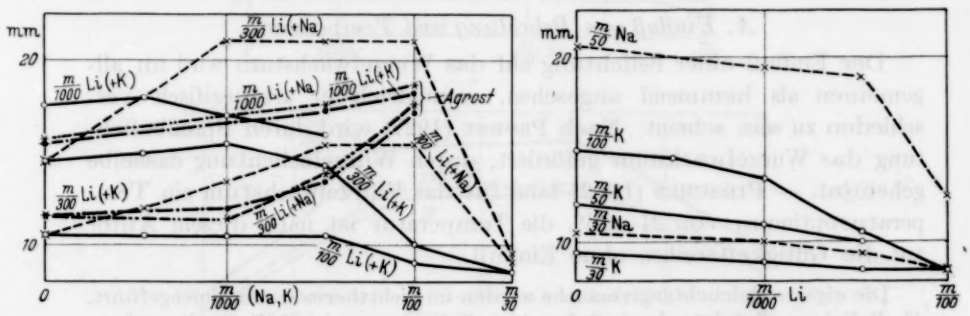


Abb. 18a u. b. Kombinationen von Alkalien untereinander, Chloride. × · · · · · · × Entgiftung Na → Li, *Lepidium*, 27 Std; ○——○ Kombination K — Li, *Lepidium*, 27 Std; * — — · · — — · · — — * Entgiftung Na → Li, *Agrostemma*, 32 Std; ● — · — ● Entgiftung K → Li, *Agrostemma*, 32 Std.

Die Tatsache, daß die Entgiftung immer nur bis zu einem bestimmten Höchstwert führen kann, macht es wahrscheinlich, daß es sich bei diesem Höchstwert, wie schon in Abschnitt III ausgeführt, um den Zustand völliger Ungiftigkeit handelt. Daraus, daß das Ca-Optimum nicht durch Zugabe anderer Ionen überschritten werden kann, ergibt sich die ohnehin wahrscheinliche Tatsache, daß

dem Ca außer seiner spezifischen Förderung auch die unspezifische Ionenförderung zukommt. Durch das 2. Ergebnis, daß in Ca-freien Lösungen das Normalniveau nicht überschritten werden kann, wird bestätigt, daß es sich bei den Förderungen durch die verschiedenen Ionen (außer durch Ca) um denselben Vorgang handelt. Sonst müßte in beiden Fällen eine Summation der verschiedenen Förderungen auftreten.

Tabelle 7. *Kombination von Ionen in optimaler Konzentration. Agrostemma*, Chloride, 32 Std, 22./23. 2. 1952.

m/3000 Ca	23,5 mm
m/3000 Ca + m/1000 Mg	22,9 mm
m/3000 Ca + m/10000 Ba	23,5 mm
m/3000 Ca + m/300 K	22,4 mm
m/3000 Ca + m/300 Na	23,0 mm

Tabelle 8. *Kombination von Ionen in optimaler Konzentration. Lepidium*, Chloride, 27 Std, 20./21. 2. 1952.

m/30000 Sr	20,2 mm
m/1000 Na	20,4 mm
m/30000 Sr + m/1000 Na	20,5 mm
m/30000 Sr + m/1000 K	20,6 mm
m/30000 Sr + m/30000 Mg	20,6 mm
m/30000 Sr + m/30000 Ba	20,0 mm

Abschnitt V.

Milieuwirkungen.

Es besteht die Möglichkeit, daß die Verschiedenheit der von den Untersuchern des Ionenantagonismus erhaltenen Ergebnisse darauf beruht, daß nicht unter gleichen Milieubedingungen gearbeitet wurde. Es soll daher untersucht werden, ob durch Variation der Milieubedingungen eine Änderung der antagonistischen Verhältnisse zu erreichen ist. Gearbeitet wurde mit *Lepidium*, verwendet wurden Chloride.

A. Einfluß von Belichtung und Temperatur.

Der Einfluß einer Belichtung auf das Wurzelwachstum wird im allgemeinen als hemmend angesehen, wenngleich er artspezifisch verschieden zu sein scheint. Nach PROBST (1927) wird durch Sproßbelichtung das Wurzelwachstum gefördert, durch Wurzelbelichtung dasselbe gehemmt. — PIRSCHLE (1932) fand für das Wurzelwachstum ein Temperaturoptimum von 24—26°, die Temperatur ist nach diesem Autor auf die Giftigkeitsreihen ohne Einfluß.

Die eigenen Beleuchtungsversuche wurden im Lichtthermostaten durchgeführt, die Belichtung erfolgte durch 2 Leuchtstoffröhren von je 25 Watt, die sich in einem Beleuchtungsaufsatz auf dem Thermostaten befanden, 35 cm über den Versuchsschalen und von ihnen durch eine Glasplatte getrennt. Die Dunkelkontrollen befanden sich in demselben Thermostaten und waren in schwarzen Stoff dicht eingeschlagen. — Die Temperaturversuche wurden gleichzeitig in 2 auf verschiedene Temperaturen geheizten Thermostaten durchgeführt. Bei gleicher Temperatureinstellung lieferten beide Thermostaten gleiche Wachstumswerte. Verwendet wurden die Temperaturen 23° und 18°, für höhere Temperaturen (30°) erwies sich die Methode als ungeeignet, da eine zu starke Verdunstung der Lösungen einsetzte.

Die Belichtung wirkte durchwegs wachstumshemmend, ebenso die niedrigere Temperatur im Vergleich zu der höheren (Abb. 19). In

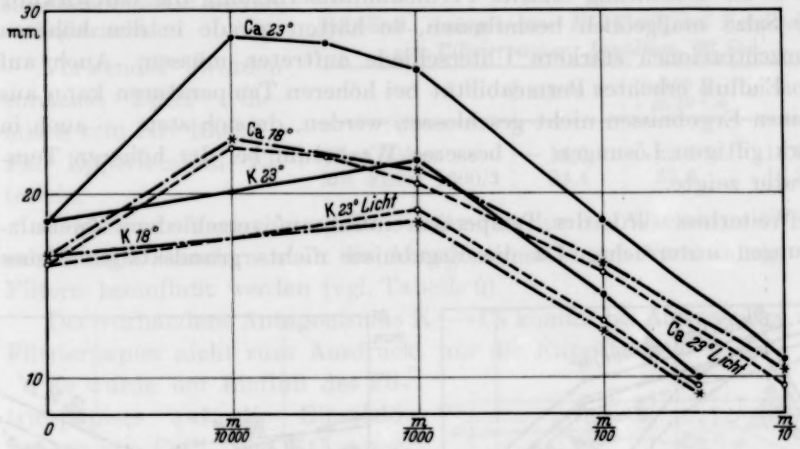


Abb. 19. Einfluß von Licht bzw. Temperatur auf das Wachstum in $CaCl_2$ bzw. KCl, *Lepidium*, 27 Std. ●——● dunkel, 23°; ✱ — · — ✱ dunkel, 18°; ○· · ·○ belichtet, 23°.

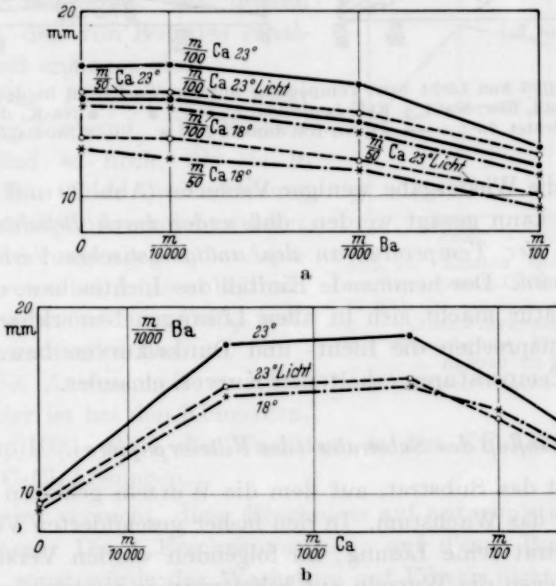


Abb. 20a u. b. Einfluß von Licht bzw. Temperatur auf das Wachstum in der Zweisalzlösung $CaCl_2$ + $BaCl_2$, *Lepidium*, 27 Std. Bezeichnungen vgl. Abb. 19.

optimalen $CaCl_2$-Lösungen ist der Unterschied zwischen Licht- und Dunkelwurzeln bzw. zwischen den bei verschiedenen Temperaturen gewachsenen Wurzeln größer als in Aqua bidest. (z. B. 21% Lichthemmung gegenüber 13,5%). Das dürfte dadurch bedingt sein, daß unter günstigen

Wachstumsbedingungen Wachtumsunterschiede deutlicher zum Ausdruck kommen als unter weniger günstigen (vgl. PIRSCHLE 1932). Würde eine durch die Belichtung erzielte Permeabilitätserhöhung die Giftwirkung der Salze maßgeblich beeinflussen, so hätten gerade in den höheren Konzentrationen stärkere Unterschiede auftreten müssen. Auch auf den Einfluß erhöhter Permeabilität bei höheren Temperaturen kann aus meinen Ergebnissen nicht geschlossen werden, da sich stets — auch in stark giftigen Lösungen — besseres Wachstum bei der höheren Temperatur zeigte.

Weiterhin wurde der Temperatureinfluß auf verschiedene Zweisalzlösungen untersucht. Da die Ergebnisse nichts grundsätzlich Neues

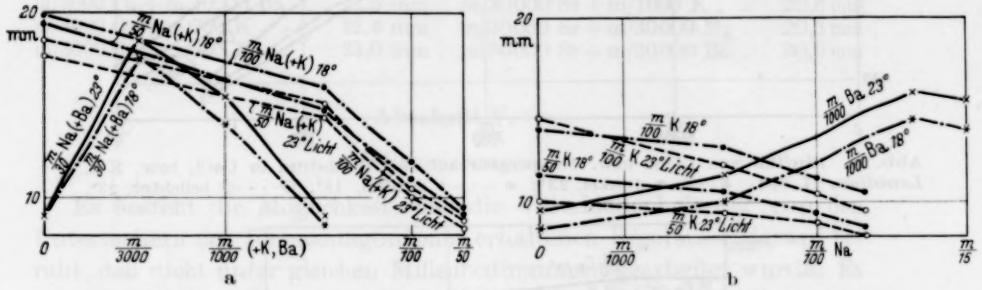


Abb. 21a u. b. Einfluß von Licht bzw. Temperatur auf das Wachstum in den Zweisalzlösungen NaCl + $BaCl_2$ bzw. NaCl + KCl, *Lepidium*, 27 Std; ● · · · ● Na-K, dunkel, 18°; ○ - - - - ○ Na-K, belichtet, 23°; × ——— × Na-Ba, dunkel, 23°; ✱ — · — ✱ Na-Ba, dunkel, 18°.

zeigen, genügt die Wiedergabe weniger Versuche (Abb. 20 und 21). Zusammenfassend kann gesagt werden, daß *weder durch Belichtung noch durch Variation der Temperatur an den antagonistischen Verhältnissen etwas geändert wird*. Der hemmende Einfluß des Lichtes bzw. der niedrigeren Temperatur macht sich in allen Lösungen bemerkbar. Abgesehen davon entsprechen die Licht- und Dunkelkurven bzw. die bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Kurven einander.

B. Einfluß des Substrates (des Filtrierpapiers).

Zweifellos ist das Substrat, auf dem die Wurzeln gehalten werden, von Einfluß auf das Wachstum. In den bisher geschilderten Versuchen diente als Substrat reine Lösung; im folgenden werden Versuche beschrieben, bei denen die Wurzeln auf Filtrierpapier wachsen.

Daß dieses einen tiefgreifenden Einfluß auf das Wurzelwachstum hat, wurde bereits von BORRISS (1937) festgestellt. Bei Verwendung der Gläschenmethode (Wachsen in reiner Lösung) wirkte gegenüber Aqua bidest. $CaCl_2$ (m/10000—m/100) fördernd, KCl hemmend auf das Wurzelwachstum; bei Verwendung der Küvettenmethode (Wachsen auf Filtrierpapier) dagegen hemmte KCl zwar ebenfalls, $CaCl_2$ hemmte jedoch noch stärker. Die beiden Methoden ergaben also entgegengesetzte

KCl:$CaCl_2$-Verhältnisse. — Durch Verwendung der Petrischalenmethode wurden Küvetten- und Gläschenmethode einander angenähert. Die zu vergleichenden Methoden unterschieden sich nur durch Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein eines Rundfilters in der Versuchspetrischale.

Verwendet wurden zunächst Filter „chemisch rein Nr. 1500/3", Fa. Epperlein in Elterlein.

Tabelle 9. *Antagonismus KCl-$CaCl_2$, bei Verwendung von Filtrierpapier. Lepidium*, 27 Std.

	m/100 K	m/100 K + m/30 Ca	m/30 Ca
Ohne Filter . . .	14,9	22,4	14,1
Mit Filter 1500/3	34,4	33,6	18,3

Einleitende Versuche ergaben, daß nicht nur das Wachstum in Einsalzlösungen, sondern auch die Antagonismen durch Verwendung von Filtern beeinflußt werden (vgl. Tabelle 9).

Der vorhandene Antagonismus K←→Ca kommt bei Anwesenheit von Filtrierpapier nicht zum Ausdruck, nur die Entgiftung K → Ca.

Es wurde der Einfluß des Filtrierpapiers auf die Einsalzlösungen von $CaCl_2$ und KCl untersucht. Die Ergebnisse sind in der Abb. 22 mitgeteilt. Sie decken sich mit den von Borriss erhaltenen und ergänzen sie.

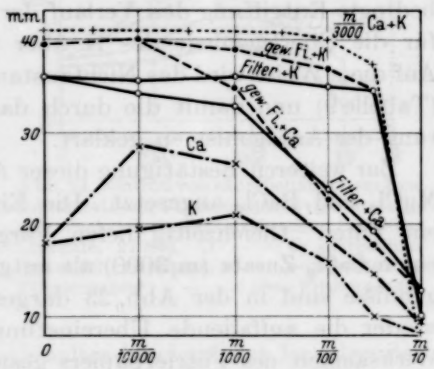


Abb. 22. Einfluß des Filtrierpapiers auf das Wachstum in $CaCl_2$ bzw. KCl, *Lepidium*, 27 Std. × — · — × ohne Filtrierpapier; ○——○ mit Filtrierpapier 1500/3; ●- - - - ● mit gewaschenem Filtrierpapier 1500/3; +- - - - + m/3000 Ca-Kurve aus Abb. 4b zum Vergleich (*Lepidium*, 43 Std, vgl. Text).

1. Das Filtrierpapier wirkt durchweg fördernd. Die Wasserwerte sind so hoch, wie sie in keiner Ein- oder Zweisalzlösung ohne Filtrierpapier erreicht werden.

2. Förderungen gegenüber Aqua bidest. treten bei Anwesenheit von Filtrierpapier in keiner $CaCl_2$- bzw. KCl-Konzentration auf.

3. Bei Anwesenheit von Filtrierpapier ist bei den Konzentrationen m/1000—m/30 das Wachstum in den KCl-Lösungen besser als in den $CaCl_2$-Lösungen.

Es wird versucht, diese Ergebnisse auf antagonistischer Grundlage zu erklären: Die 1. Erscheinung kann auf dieser Basis nicht erklärt werden, sonst würde das Wachstum auf Filtern nicht alle durch Entgiftungen erzielten Werte übertreffen. Es wird sich um eine stimulierende chemische Wirkung handeln, die hier nicht näher untersucht werden soll. Daß jedoch gegenüber Aqua bidest. (auch durch Ca) keine Förderungen auftreten, läßt sich dadurch erklären, daß der Ca-Ionengehalt des Filtrierpapiers bereits optimal ist, also etwa einer m/3000-

Lösung entspricht. 9 cm^3 (also die Flüssigkeitsmenge einer Versuchsschale) einer m/3000 $CaCl_2$-Lösung enthalten 0,333 mg $CaCl_2$ = 0,12 mg Ca. Das Filtrierpapier hatte einen Ca-Gehalt von 0,26 mg je Filter. (Die Bestimmung wurde im salzsauren Auszug der Filterasche vorgenommen und erfolgte gravimetrisch als Oxalat.) Da sicherlich nicht die gesamte Ca-Menge für die Pflanze aufschließbar ist (s. unten), ist es durchaus möglich, daß der Ca-Gehalt einer Petrischale mit 9 cm^3 Aqua bidest. und einem Rundfilter dem einer m/3000 $CaCl_2$-Lösung entspricht.

Daß die m/1000—m/30 KCl-Lösungen den gleichmolaren $CaCl_2$-Lösungen überlegen sind, ist nun auf Grund antagonistischer Erscheinungen zu verstehen: Die auffallende Übereinstimmung der in Abb. 22 dargestellten Kurve für KCl + Filter mit der m/3000 Ca-Kurve in Abb. 4b, die zum Vergleich in Abb. 22 mit eingezeichnet ist, macht es sehr wahrscheinlich, daß die durch den Ca-Gehalt des Filtrierpapiers bedingte Entgiftung den Verlauf der ersten Kurve bestimmt und damit für die Überlegenheit des K über Ca verantwortlich zu machen ist. Auf diese Weise wird das Nichtzustandekommen der Entgiftung Ca → K (Tabelle 9) und damit die durch das Filtrierpapier bewirkte Veränderung der Antagonismen geklärt.

Zur weiteren Bestätigung dieser Ansicht wurden Versuche mit NaCl, $MgCl_2$ und $BaCl_2$ angesetzt. Die Einsalzlösungen enthielten wieder je ein Filter. Gleichzeitig liefen Vergleichsserien, die statt des Filters einen $CaCl_2$-Zusatz (m/3000) als entgiftendes Agens aufwiesen. Die Ergebnisse sind in der Abb. 23 dargestellt. In allen Fällen ergibt sich wieder die auffallende Übereinstimmung, so daß die antagonistische Wirksamkeit des Filtrierpapiers gesichert erscheint.

Es wurde versucht, die entgiftenden Ca-Ionen aus dem Filtrierpapier auszuwaschen. Dazu wurden die Filter etwa 24 Std in fließendem Wasser gespült, mehrmals einige Stunden in destilliertem, anschließend in doppelt destilliertem Wasser gewaschen und schließlich in Aqua bidest. ausgekocht. Das erzielte Ergebnis ist ebenfalls in Abb. 22 dargestellt: Ein Auswaschen der Ionen ist nicht möglich. In geringeren Salzkonzentrationen ist gegenüber ungewaschenen Filtern eine Förderung bei gespülten Filtern zu beobachten, ebenso in Aqua bidest. (statistisch gesichert). Es muß sich um die Entfernung eines hemmenden Stoffes durch das Auswaschen handeln.

Das entgiftende Ca liegt also in den Filtern in einer solchen Form vor, daß es zwar nicht durch Auswaschen, wohl aber durch den Einfluß der Wurzeln in Lösung gebracht werden kann. Es liegt nahe, an einen sauren Aufschluß zu denken und diesen im Experiment zu wiederholen: Filtrierpapier wurde mit 10%iger HCl behandelt.

Die Filter wurden 4 Tage in der Säure belassen, wobei diese einmal gewechselt wurde. Dann wurden sie etwa 3 Wochen lang in Aqua dest. und 1 Woche in Aqua bidest. unter täglicher Erneuerung des Wassers gewaschen, um die letzten Spuren der Säure zu entfernen. Zum Schluß wurden die Filter in Aqua bidest. ausgekocht und im Thermostaten getrocknet. Eine azidimetrische Prüfung (Chinhydron-Elektrode) ergab, daß die Salzsäure quantitativ ausgewaschen war.

Es wurden nun Versuche auf derart behandeltem Filterpapier ausgeführt. Das Ergebnis zweier Versuche ist in Abb. 24 dargestellt: Durch die Säurebehandlung wurden sowohl das Ca als auch der wachstumsfördernde Faktor des Filtrierpapiers entfernt. Die Kurven nehmen die Gestalt der Einsalzkurven der Abbildung 1 an.

Die bisher geschilderten Versuche dieses Abschnittes wurden

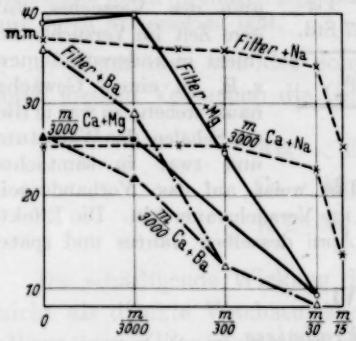


Abb. 23. Vergleich des Einflusses des Filtrierpapiers mit dem einer Zugabe von m/3000 Ca auf das Wachstum in Einsalzlösungen, *Lepidium*, Chloride, 27 Std (vgl. Text). × - - - - - × Na; O——O Mg; △ — · — △ Ba.

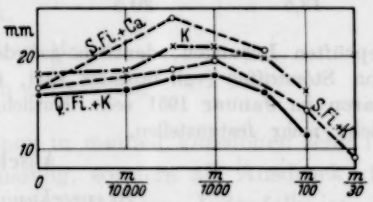


Abb. 24. Einfluß von säurebehandeltem bzw. quantitativem Filtrierpapier (vgl. Text) auf das Wachstum in Einsalzlösungen, *Lepidium*, Chloride, 27 Std. O- - - - - - O säurebehandeltes Filtrierpapier; ●——● quantitatives Filtrierpapier; × — · — × ohne Filtrierpapier.

mit Filtern verhältnismäßig hohen Ca-Gehaltes durchgeführt. Im folgenden seien einige Versuche mit quantitativen Filtern der Fa. Gessner & Kreuzig, Niederschlag, Nr. 388, geschildert. Diese haben einen Aschengehalt von 0,13 mg je Filter, Kalkgehalt 44—46% (Angabe des Fabrikchemikers). Das entspricht, bezogen auf 9 cm³ Lösung, etwa einer m/10000 Lösung, unter der Voraussetzung, daß das Ca restlos in Lösung gebracht wird. Da die Erfüllung dieser Voraussetzung sehr unwahrscheinlich ist, erscheint es möglich, daß die gelöste Ca-Menge unteroptimal ist und auch zur Entgiftung nicht ausreicht. Die Versuche wurden mit $CaCl_2$ und KCl durchgeführt. Einige Ergebnisse zeigt Abb. 24. Die Kurven entsprechen den Einsalzkurven der Abb. 1: Die verwendeten quantitativen Filter wirken nicht antagonistisch, auch fehlt ihnen der wachstumsfördernde Faktor, der den zuerst verwendeten gewöhnlichen Filtern eigen ist. Der dritte, hemmende, auswaschbare Faktor findet sich jedoch auch in diesen Filtern, wie die Tabelle 10 zeigt.

Bei einer derartigen Beschaffenheit der Filter können diese für Untersuchungen über den Ionenantagonismus geeignet sein. Daß dies der Fall ist, zeigt Tabelle 11 (vgl. Tabelle 9).

Tabelle 10. *Wachstum auf quantitativen Filtern, Filter gespült und ungespült. Lepidium*, $CaCl_2$, 27 Std.

	Aq. bid.	m/3000 Ca	m/300 Ca
Ungespült . . .	16,5	26,9	23,0
Gespült	17,8	28,5	23,5

Tabelle 11. *Antagonismus KCl-$CaCl_2$, unter Verwendung von quantitativen Filtern. Lepidium*, 27 Std.

m/100 K	m/100 K + m/30 Ca	m/30 Ca
13,5	20,5	13,0

C. Einfluß von Störstoffen.

Da die Effekte sich als nicht reproduzierbar erwiesen, seien einige Versuche nur kurz erwähnt: Ließ ich die Versuchsschalen mit der fertigen Lösung vor Beginn des Versuches längere Zeit im Versuchsraum (nicht in anderen Räumen, z. B. in einem Gewächshaus) stehen, so war in diesen Schalen das Wachstum, und zwar in sämtlichen geprüften Lösungen, deutlich gefördert. Das weist auf das Vorhandensein von Störstoffen (vgl. BORRISS 1941, 1944) im Versuchsraum hin. Die Effekte waren im Januar 1951 sehr deutlich, im April desselben Jahres und später nicht mehr festzustellen.

Abschnitt VI.

Besprechung der Ergebnisse.

A. Einsalzwirkungen. Es wurden im Verlaufe dieser Arbeit 3 Einsalzwirkungen beschrieben: 1. unspezifische Förderung durch alle Ionen gegenüber Aqua bidest.; 2. spezifische Förderung durch Calcium und 3. schädigende Wirkung aller Ionen in höheren Konzentrationen.

1. Eine unspezifische Ionenförderung wird in der Literatur meistens als Entgiftung des destillierten Wassers gedeutet. Eine Diskussion dieser Frage findet sich z. B. bei MEVIUS (1928). Häufig werden alle Ionenförderungen, auch die durch Ca, als Entgiftungen bezeichnet und von vollständiger (durch Ca) oder teilweiser (z. B. durch K) Entgiftung gesprochen. — Es sei hier nur noch die Arbeit von SCARTH (1927) erwähnt, der Wasserentgiftung durch Ca, Sr, Ba, Li, Na, K, Rb, Cs und andere Ionen fand. Auch weisen viele Daten aus den umfangreichen Untersuchungen PIRSCHLES (1932) in diese Richtung, auch die Lage der Optima ist bei diesem Autor oft dieselbe wie in meinen Versuchen. — Es liegt nicht im Sinne der vorliegenden Arbeit, über die Ursache dieser Entgiftung oder unspezifischen Ionenförderung zu diskutieren. Es sei nur darauf hingewiesen, daß es sich nach Abschnitt II nicht um Entgiftungen von aus dem Glase abgegebenen Substanzen handeln kann; auch nicht um Entgiftungen von Verunreinigungen der Aqua bidest. Dann müßte Aqua dest. giftiger wirken als Aqua bidest., das Umgekehrte ist aber der Fall. (Bor, das bei der 2. Destillation in das Destillat gelangt sein könnte, spielt nach Abschnitt II keine Rolle.)

Daß in vielen Untersuchungen keine Wasserentgiftung gefunden wurde, scheint in vielen Fällen daran zu liegen, daß das verwendete Substrat nicht frei von Ionen war, z. B. in den Untersuchungen von HASSAN und OVERSTREET (1952), wo als Substrat gereinigter Sand diente (vgl. meine Filtrierpapierversuche).

2. Eine fördernde Wirkung des Calciums ist aus der Literatur für das Wurzelwachstum bekannt. In meinen Versuchen wurde sie erneut nachgewiesen. Im allgemeinen wird die Ca-Förderung für eine Förderung des Teilungswachstums gehalten. Es scheint festzustehen, daß „das Calcium, welches die Zellstreckung sehr stark hemmt, das Wurzelwachstum offenbar deshalb fördert, weil hier für die Längenzunahme die Meristemtätigkeit entscheidend ist, die vom Calciumchlorid begünstigt wird" (Borriss 1937). Ob diese Begünstigung auf der Förderung der Zellwandbildung oder der Mitose, wie es von verschiedenen Seiten angenommen wird, oder auf beiden oder noch anderen Faktoren beruht, bleibt für diese Arbeit ohne Bedeutung. Anzunehmen ist jedoch, daß es sich mehr um eine chemische als um eine kolloidchemische Wirkung handelt, da sich das Calcium nicht durch verwandte Ionen (in einigen mehr oder weniger unsicheren Fällen aus der Literatur nur durch Sr) ersetzen läßt.

3. Wenn man von der Sonderstellung des Ca absieht, erhält man nach meinen Versuchen die Giftigkeitsreihen:

$$\text{Alk.} < \text{Erdalk.}$$
$$\text{Ca} < \text{Mg} \gtrless \text{Sr} < \text{Ba}$$
$$\text{K} \gtrless \text{Na} < \text{Rb} < \text{Cs} < \text{Li}.$$

Die schädigende Wirkung der Ionen in meinen Versuchen sehe ich nicht als direkte Wachstumsbeeinflussung, sondern als Ausdruck der allgemeinen Giftwirkung auf den Protoplasten an. Jedenfalls ist die Wirkung hoher Konzentrationen so zu verstehen, und in meinen Versuchen unterscheiden sich die Wirkungen niedriger Konzentrationen qualitativ nicht von denen höherer Konzentrationen, abgesehen von der Entgiftung der Aqua bidest. und der spezifischen Ca-Förderung.

Die giftige Wirkung der Ionen läßt sich einerseits auf der Grundlage der Schnelligkeit erklären, mit der sie in den Zellkörper eindringen, andererseits auf Grund der Stärke, mit der sie auf das Innenplasma einwirken. Es ist offensichtlich, daß bei verschiedener Methodik beide Gesichtspunkte verschieden stark in den Vordergrund treten werden, und es findet sich bereits in einer Arbeit von Port (1932) der Gedanke, daß hierbei maßgeblich der Zeitfaktor beteiligt sei. Bei Anwendung kurzer Versuchszeiten, wenn erst bestimmte Ionen in größerer Menge in das Plasma eingedrungen sind, andere nicht oder kaum, werden die ersteren die größere Giftigkeit entfalten; bei längerer Versuchszeit, wenn alle Ionen in hinreichender Menge im Plasma vorhanden sind, wird die verschiedene Giftigkeit der einzelnen Ionen im Plasmainnern mehr in den Vordergrund treten. (Die Begriffe „lange" und „kurze" Versuchsdauer sind relativ zu verstehen: Verschiedenheit nach Objekt und Methode.)

Dabei geht starkes Eindringen eines Ions gewiß nicht spurlos an der Plasmaoberfläche vorüber, im Gegenteil: Das eindringende Ion und die

Plasmaoberfläche befinden sich in enger Wechselbeziehung, die bis zur Verflüssigung der Plasmahaut und damit zu starker Oberflächengiftigkeit führen kann. Man vergleiche hierzu die Ergebnisse vieler Mikroinjektions- und anderer Versuche (z. B. CHAMBERS und REZNIKOFF 1926; SPEK 1928, 1930; KERR 1933): Ca, äußerlich geboten, wirkt relativ ungiftig, innerlich geboten stark giftig; die giftige Wirkung der Erdalkalien macht sich hauptsächlich im Plasmainnern, die der Alkalien hauptsächlich an der Plasmaoberfläche bemerkbar; auf die Plasmaoberfläche wirken K, Na und Mg verflüssigend. Weiter vergleiche man auch hierzu die unterschiedlichen Absterbebilder in meinen Versuchen mit Alkalien und Magnesium bzw. mit den übrigen Erdalkalien.

Betrachtet man unter diesem Gesichtspunkt verschiedene Giftigkeitsreihen aus der Literatur, so sind trotz aller Verschiedenheiten gewisse Gesetzmäßigkeiten bemerkbar[1]:

Lange Zeiten:

$Ca < Na < K < Mg$	(BENECKE 1907)
$Ca < Sr < Mg < Ba < Be$	(PIRSCHLE 1930, 1932, 1935)
$K < Na < Rb < Cs < Li$	(PIRSCHLE 1930, 1932, 1935; vgl. auch HASSAN und OVERSTREET 1952)
$Ca < Na \lesssim K < Rb < Cs < Li < Mg \lesssim Sr < Ba$	(eigene Ergebnisse).

Kurze Zeiten:

$Ca < Sr < Ba < Mg < Li < Na < K$	(KAHO 1926)
$Ca < \quad Ba < Li < Mg < K < Na$	(EISELSBERG 1937).

Bei kurzen Versuchszeiten sind (immer abgesehen von der Sonderstellung des Ca) die Alkalien giftiger als die Erdalkalien (hohes Permeationsvermögen oder stark quellende Wirkung auf die Plasmahaut). Bei langen Versuchszeiten sind die Erdalkalien giftiger als die Alkalien (größere Kolloidaktivität mehrwertiger Ionen).

Ähnliches gilt für das Verhältnis Mg:Ba. Mg als das einzige auf die Plasmaoberfläche verflüssigend wirkende Erdalkaliion weist die größere Oberflächenschädigung und Permeation auf (kurze Zeiten), Ba besitzt die größere Plasmagiftigkeit (lange Zeiten).

Was das Verhältnis Mg:Sr betrifft, lassen sich unter Umständen meine Versuchsergebnisse folgendermaßen deuten: Bei geringeren Konzentrationen überwiegt die stärkere Giftigkeit des Sr (Innenwirkung), bei höheren Konzentrationen kommt zur Innenwirkung des Mg die starke Oberflächenwirkung hinzu. In der Literatur finden wir meistens das Verhältnis $Sr < Mg$, HASSAN und OVERSTREET (1952)

[1] Viele weitere Giftigkeitsreihen aus der Literatur, die hier nicht angeführt werden, unterstreichen grundsätzlich die hier dargelegten Anschauungen. Versuche, bei denen die Pflanzen auf Filtrierpapier wuchsen, wurden nicht berücksichtigt (s. Abschnitt V).

fanden jedoch an *Raphanus sativus* dieselben Verhältnisse wie ich an *Lepidium*, auch einige Kurven PIRSCHLES (1932) zeigen dasselbe.

Außer dem Zeitfaktor spielt die spezifische Empfindlichkeit der Objekte eine große Rolle. Zum Beispiel gab MEVIUS (1927) für *Pinus pinaster* größere KCl- als $MgSO_4$-Giftigkeit an, während er für alle übrigen untersuchten Pflanzen das umgekehrte Verhältnis fand.

Die von mir gefundene Reihe der Alkalien ist mit der PIRSCHLES identisch, auch HASSAN und OVERSTREET erhielten dieselbe Reihe. PIRSCHLE wies auf die Ähnlichkeit seiner Reihen mit den HÖBERschen Übergangsreihen (1926) hin. Doch muß meines Erachtens die Alkalireihe in erster Linie unter folgendem Gesichtspunkt betrachtet werden: Die am häufigsten vorkommenden Ionen (K, Na) sind am ungiftigsten. Das braucht nicht auf einem Zufall zu beruhen, mit anderen Worten: Der Salzeinfluß auf das Plasma dürfte zum Teil eine Anpassungserscheinung sein. Eine Überschwemmung des Plasmas mit plasmafremden Ionen dürfte ganz allgemein schädlich wirken, vielleicht begründet durch Verdrängung der chemisch verwandten Ionen aus lebenswichtigen Stellungen. Hierauf mag die relative Ungiftigkeit von K und Na beruhen; für die übrigen, plasmafremden Ionen mögen dann lyotrope Verhältnisse ausschlaggebend sein: Falls Li als das am stärksten quellende Alkaliion angesehen wird, könnte die Tatsache, daß Li am giftigsten wirkt, darauf hinweisen, daß die Giftwirkung der Alkalien auf einer Verflüssigung der Plasmaoberfläche beruhe.

Für das Verhältnis K:Na muß wieder auf die große Spezifität der einzelnen Objekte hingewiesen werden (vgl. z. B. die Tabellen PIRSCHLES 1932). In meinen Versuchen verhielten sich *Lepidium* und *Agrostemma* verschieden.

Das Giftigkeitsverhalten des Ca wird durch seine andere, das meristematische Wachstum fördernde Wirkung überlagert. Vielleicht darf man in Anlehnung an HÖBER (1947) sagen, daß eine chemische Reaktion eine kolloidchemische überlagert. Bei der Subtraktion dieser spezifischen Ca-Wirkung ergibt sich ein anderes Bild, wie der Vergleich der toxischen Dosen (s. Abschnitt III) zeigt. Es ist anzunehmen, daß *Calcium seinem eigentlichen Giftigkeitsverhalten nach nicht an die Spitze der Reihen gehört, sondern giftiger als die Alkalien ist.* Bei *Lepidium* ist dies auch innerhalb eines gewissen Konzentrationsbereiches, wenigstens für das unschädlichste Alkaliion, das Natrium, der Fall.

Beim Vergleich der von mir wahrscheinlich gemachten Giftigkeitsverhältnisse (Ca nicht an der Spitze der Reihen, sondern bei den übrigen Erdalkalien) mit den Ergebnissen, die beim Studium der Beeinflussung des Streckungswachstums von Hypokotylen bzw. Koleoptilen (also unter Ausschaltung der Meristemtätigkeit) erzielt wurden, ergibt sich eine auffallende Übereinstimmung; z. B.:

$K, Na < H_2O < Li, Ca$ (BORRIS 1939)
$H_2O < K < Rb < Na < Cs < Li < Mg < Ca < Sr < Ba$ (WUHRMANN 1938).

Aus dieser Parallelität zwischen Giftigkeitsreihen und Streckungswachstumsreihen tiefergehende Schlüsse ziehen zu wollen, wäre verfrüht, obgleich es sich in beiden Fällen um denselben Primärvorgang (Veränderung der Plasmahydratation) handeln mag.

Die starke Abhängigkeit des Wachstums der *Lepidium*-Wurzeln von Ionen, insbesondere die starke Ca-Förderung, zwingt zu erneuten Bedenken gegen den Kressewurzeltest.

B. Zweisalzwirkungen. Es kann hier darauf verzichtet werden, die zahlreichen Hypothesen zur Erklärung des Ionenantagonismus anzuführen. Es sei auf die Zusammenstellungen bei RUBINSTEIN (1928) und EISELSBERG (1937) hingewiesen. Die Erklärungsmöglichkeiten lassen sich in 2 Gruppen teilen: Man kann als Ursache des Antagonismus eine direkte Ionenwirkung auf die Plasmakolloide ansehen, oder aber eine Ionenwirkung auf die Plasmaoberfläche (Abdichtungstheorie). Eine ausgezeichnete Gegenüberstellung der beiden Ansichten findet sich bei SPEK (1928). Gegen eine Verallgemeinerung der ersteren Erklärung bestehen die z. B. von SPEK (1928, 1930) vorgetragenen experimentell begründeten Bedenken durchaus zu Recht. Andererseits versagt die zweite Erklärung, die für die Entgiftung „schwach abdichtender" Ionen durch „stärker abdichtende" brauchbar ist (Zusatz von Erdalkalien vermindert das hohe Permeationsvermögen der Alkalien: z. B. OSTERHOUT 1922), in dem umgekehrten Falle, wenn es sich also um eine Entgiftung von (stark abdichtenden) Erdalkalien durch (schwach abdichtende) Alkalien handelt.

Auch die experimentellen Daten meiner Arbeit lassen ein ausschließliches Zurückgreifen auf die Abdichtungstheorie nicht zu: Zum Beispiel zeigt der Vergleich der Wirkungen der Erdalkalien auf die Alkalien, daß Ba weit stärker abdichtend wirkt als Sr, demgegenüber wird jedoch Ba durch Sr entgiftet, nicht umgekehrt, wie man nach dem stärker abdichtenden Verhalten des Ba vermuten sollte.

Wenn man nun mit der allgemein vorherrschenden Meinung die abdichtende Wirkung von Ionen auf ihr Kolloidfällungsvermögen zurückführt, wenn man sich weiter vor Augen hält, daß an der Plasmaoberfläche ein Ion um so *günstiger* wirkt, je stärker sein Fällungsvermögen ist, daß im Plasmainnern ein Ion dagegen um so *schädlicher* wirkt, je stärker sein Fällungsvermögen ist, so läßt sich auf dieser Grundlage der größte Teil aller Beobachtungen erklären. Ganz allgemein gesagt, *erfolgt die Entgiftung eines schwach fällend (oder quellend) wirkenden Ions durch ein stark fällendes an der Plasmaoberfläche, die umgekehrte Erscheinung im Plasmainnern.* Durch diese Überlegung wird ohne weiteres verständlich, weshalb die Entgiftung der Erdalkalien durch die Alkalien, die nach den obigen Darlegungen im Plasmainnern stattfindet, bei vielen Untersuchern (z. B. KAHO 1921, 1926; EISELSBERG 1937) der

Beobachtung entgehen mußte: Bei allen kurzzeitigen Versuchen werden nur die Vorgänge an der Plasmaoberfläche erfaßt.

Betrachten wir von diesem Gesichtspunkt aus die in dieser Arbeit beobachteten Erscheinungen. Die bei der Entgiftung der Alkalien gefundene Erdalkalireihe Ba > Sr, Ca > Mg (1)[1] stützt die entwickelte Anschauung: Das am stärksten fällende Ion[2] wirkt am stärksten abdichtend, Mg dagegen, das nach vielen Angaben auf die Plasmaoberfläche quellend wirkt, im Verhältnis zu den Alkalien aber entquellend, entfaltet die geringste Wirksamkeit.

Man beachte bei diesen Entgiftungserscheinungen den Einfluß des Anions. Zum Beispiel wirkt Mg schwächer quellend als die Alkalien; um denselben Effekt hervorzurufen, sind größere Mg- als Alkalimengen erforderlich; jene enthalten dann, noch dazu infolge der Zweiwertigkeit des Mg, die weitaus größere Zahl von entgegengesetzt wirkenden Anionen. Diese Tatsache, im Verein mit der adsorptiven Verdrängung der Alkalien durch Mg, erklärt die Entgiftung.

Dasselbe gilt für die Entgiftung des Mg: Ba > Sr, Ca (7)[1]. Die Reihe ist dieselbe, die Entgiftung ebenso zu erklären. — Schwieriger ist das Verständnis der Erscheinung, daß Li (als das am stärksten quellende Alkaliion?) leichter entgiftet wird als Rb und Cs (2)[1]. Eine eingehende Erörterung würde einen allzu hypothetischen Charakter annehmen und sei einem späteren Zeitpunkt vorbehalten.

Bei der Analyse der für die Alkali → Erdalkali-Wirkungen geltenden Gesetzmäßigkeiten (3)[1] (Wirkung im Plasmainnern) fällt die Identität der für die Entgiftung des Mg geltenden Reihe K > Rb > Cs > Na > Li mit der häufigsten der Höberschen Übergangsreihen (1926) auf. Bei Ba dagegen kehrt sich das Verhältnis Rb, Cs : Na, Li um. Möglicherweise läßt sich diese Verschiebung in Anlehnung an die gleichartige Verschiebung der Höberschen Reihen durch p_H-Änderung erklären: $MgCl_2$ reagiert saurer als $BaCl_2$.

Hiermit in unmittelbarem Zusammenhang können die unter (4) angeführten Reihen stehen. Im allgemeinen wird das am wenigsten fällende Mg auch am leichtesten entgiftet; die Entgiftung Li → Mg (s. oben) ist aber derart schwach, daß Li auf Ba und Sr stärker wirken kann. Na nimmt aus demselben Grunde eine Mittelstellung ein. — Die einander nahestehenden Ionen Sr und Ba werden durch die Alkalien mit gleicher Stärke entgiftet (4), ebenso durch Mg (9).

Betrachten wir nun die Entgiftungen zwischen den einzelnen Alkalien. Ein Erklärungsversuch auf Grund lyotroper Einflüsse läßt sich zwar durchführen, würde aber auf Schwierigkeiten stoßen und Hilfsannahmen erfordern. Es deutet jedoch die Tatsache, daß gerade die häufigsten Alkalien K und Na allein fähig sind, Entgiftungen zu erzielen, darauf

[1] Die eingeklammerten Ziffern verweisen auf die gleichen Ziffern in Abschn. IV.

[2] *Anmerkung während der Korrektur:* Später zu veröffentlichende Modellversuche am Quellkörper von *Lepidium* u. a. zeigen, daß für die Herabsetzung der Quellung tatsächlich die Reihe Ba> Sr>Ca gilt.

hin, daß die Entgiftung hier auf der schon angeführten Tatsache beruht, daß die Überschwemmung des Plasmas mit einem plasmafremden Ion (Li, Rb, Cs) schädigend wirkt; durch Zugabe eines Ions von gleicher Wertigkeit, an welches das Plasma „angepaßt" ist, wird das gestörte Gleichgewicht zum Teil wieder hergestellt. — Die im Vergleich mit der bei *Lepidium* fehlenden Entgiftung K → Li sehr starke Entgiftung Na → Li läßt jedoch noch eine Beteiligung anderer Faktoren vermuten, die artspezifisch sein können.

Die Kombinationen zwischen den einzelnen Erdalkalien (5) lassen deutlich die Reihe Ca → Sr → Ba erkennen, wobei Entgiftung nur von links nach rechts erfolgt. Es handelt sich also nicht um eine Abdichtung, da Ba stärker fällend wirkt als Sr (und wahrscheinlich auch als Ca) (1,7)[1]. Es sind 2 Erklärungen möglich: 1. Ca, Sr und Ba entfalten ihre Giftigkeit im Plasmainnern, bei ihrer Entgiftung sind demzufolge Vorgänge im Plasmainnern entscheidend: Das weniger schädliche Ion entgiftet (durch teilweise adsorptive Verdrängung) das schädlichere (stärker fällende). Setzt man die Fällungsreihe Ba > Sr > Ca[1] als gegeben, ist das Fehlen der Entgiftungen Ba → Ca, Sr → Ca, Ba → Sr ohne weiteres verständlich, ebenso die Formeln (6) und (8). (Beachte! Mg entgiftet nicht stärker als Ca: Hinzutreten der Oberflächengiftigkeit des Mg. Leichte Entgiftbarkeit des Mg: Abdichtung.) — 2. Die Verhältnisse lassen sich analog denen bei den Alkalien erklären (Giftigkeit plasmafremder, Entgiftung durch plasmaeigene Ionen). Dann ist das Zustandekommen der Entgiftungen Ca → Sr, Ca → Ba sowie das Nichtzustandekommen der Entgiftungen Ba → Ca, Ba → Sr, Sr → Ca einleuchtend, allerdings würde die Entgiftung Sr → Ba Schwierigkeiten bereiten, wenn man nicht mit verschiedenen Autoren annimmt, daß das Sr-Ion zum Teil das Ca im Organismus vertreten kann. Auch die Formeln (6) und (8) wären dann ohne weiteres verständlich. (Beachte: Wenn Sr das Ca teilweise zu vertreten vermag, kann die Entgiftung Ca → Sr nicht stark sein.) — Welcher der beiden Erklärungsversuche richtig ist, ist auf Grund meiner Versuche nicht zu entscheiden.

Ich fasse die entwickelten Vorstellungen zusammen. Die antagonistischen Erscheinungen beruhen:

1. Auf der „Abdichtung" der Plasmaoberfläche. Mangelhaft abdichtende bzw. auf die Oberfläche quellend oder verflüssigend wirkende Ionen werden durch stärker abdichtende Ionen am Eindringen in das Plasma bzw. in der Entfaltung ihrer schädigenden Wirkung auf die Plasmaoberfläche gehindert. (Gilt für die Entgiftung von Alkalien oder Mg durch Erdalkalien.)

2. Auf einer Herabsetzung der Fällung der Plasmakolloide. Stark fällend wirkende Ionen werden durch schwach fällend wirkende in

[1] Vgl. Fußnote 2 auf S. 431.

der Entfaltung ihrer (das Plasmainnere) schädigenden (kolloidfällenden) Wirkung gehemmt. (Gilt für die Entgiftung von Erdalkalien durch Alkalien oder Mg, gilt eventuell für Entgiftungen von Erdalkalien untereinander.)

3. Auf Verdrängungserscheinungen. Überschwemmung des Plasmas mit plasmafremden Ionen wirkt schädigend; durch Zugabe von Ionen gleicher Wertigkeit, an die das Plasma „gewöhnt" (angepaßt) ist, wird das gestörte Gleichgewicht zum Teil wieder hergestellt. (Gilt für die Entgiftung von Alkalien untereinander, gilt eventuell für die Entgiftung von Erdalkalien untereinander.)

Sicherlich ist das Antagonismusproblem außerordentlich verwickelt, und es stellen sich stets Nebenwirkungen ein, die bis ins Letzte kaum zu erfassen sind. In der obigen Formulierung wurde versucht, die charakteristischsten Erscheinungen zu erfassen und zu deuten.

C. Milieuwirkungen. 1. Zu den Versuchen über den Einfluß von Temperatur und Licht sei darauf hingewiesen, daß bisher keine Veranlassung besteht, eine Beeinflussung (auch nicht auf Grund von Permeabilitätsänderungen) der antagonistischen Verhältnisse durch Temperatur und Licht anzunehmen. Allerdings ist den mitgeteilten Ergebnissen nur der Wert von Tastversuchen beizumessen.

2. Die Versuche über den Einfluß des Filtrierpapiers ergaben, daß die durch die Ca-Ionen des Filtrierpapiers bewirkten Entgiftungen für die scheinbaren Änderungen der Antagonismen verantwortlich zu machen sind. Dabei werden die Ca-Ionen nicht durch die umgebende Flüssigkeit, sondern zum Teil erst durch den Einfluß der Wurzeln gelöst. — Das Vorkommen eines weiteren, fördernden (möglicherweise aus mehreren Teilfaktoren bestehenden) Faktors im Filtrierpapier (der auf die antagonistischen Erscheinungen ohne Wirksamkeit ist) ist nicht neu: Fitting (1928) sprach von einer im Filtrierpapier vorhandenen Substanz höchster physiologischer Wirksamkeit; auch in den Borrissschen Versuchen (1937) waren die mit der Küvettenmethode erreichten Wachstumswerte allen anderen überlegen.

Die Ergebnisse stellen die Unzulänglichkeit aller Methoden, bei denen mit Filtrierpapier gearbeitet wird, das nicht eingehend auf seine physiologische Wirksamkeit geprüft ist, wenigstens für Untersuchungen über den physiologischen Ionenantagonismus unter Beweis.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wird eine Methode beschrieben, bei der das Wurzelwachstum von *Lepidium sativum* und *Agrostemma githago* unter konstanten Bedingungen verfolgt wird. Sie schließt sich an den Kressewurzeltest von Moewus an, jedoch werden die Versuche ohne Verwendung von Filtrierpapier durchgeführt.

2. Es wird der Einfluß der Chloride von Li, Na, K, Rb, Cs, Mg, Ca, Sr, Ba sowie der Nitrate von Na, K, Mg, Ba auf das Wurzelwachstum untersucht. Dabei werden Konzentrationen von m/10 bis m/100000 verwendet.

3. In verdünnten Lösungen zeigen alle untersuchten Ionen eine unspezifische Förderung gegen Aqua bidest. Diese wird von zweiwertigen Ionen in niedrigeren Konzentrationen bewirkt als von einwertigen und führt bei allen Ionen bis zu dem gleichen Wachstumswert.

4. Dem Ca kommt außerdem eine spezifische Wachstumsförderung zu.

5. Die Giftwirkung der Ionen folgt den Reihen:

$$\text{Alk.} < \text{Erdalk.}$$
$$\text{Ca} < \text{Mg} \leqq \text{Sr} < \text{Ba}$$
$$\text{K} \leqq \text{Na} < \text{Rb} < \text{Cs} < \text{Li},$$

wobei die rechts stehenden Ionen die schädlicheren sind.

6. Die Absterbebilder in konzentriertesten Alkali- und Mg-Lösungen einerseits und in Ca-, Sr- und Ba-Lösungen andererseits sind verschieden.

7. Es wird der Einfluß von Zweisalzlösungen auf das Wurzelwachstum untersucht. Dabei wird jedes mit jedem Ion kombiniert.

8. Jedes Alkaliion läßt sich durch jedes Erdalkaliion entgiften und umgekehrt.

9. Mg verhält sich Ca, Sr und Ba gegenüber wie ein Alkaliion: Es steht mit diesen Erdalkalien in antagonistischem Verhältnis.

10. Zwischen den Ionen Ca, Sr und Ba bestehen keine antagonistischen Verhältnisse, sondern nur Entgiftungen; dergestalt, daß in der Reihe Ca → Sr → Ba Entgiftungen nur von links nach rechts erfolgen.

11. Zwischen den einzelnen Alkalien bestehen keine antagonistischen Verhältnisse, sondern nur Entgiftungen durch Na und K; diese beiden entgiften sich jedoch gegenseitig nicht.

12. Liegt ein Ion in optimaler Konzentration vor, so läßt sich der erreichte Wachstumswert durch Zugabe eines zweiten Ions nicht verbessern, außer durch Zugabe von Ca.

13. Belichtung des Keimlings sowie Verwendung einer niederen Temperatur (18° statt 23°) hemmt das Wurzelwachstum.

14. Belichtung des Keimlings sowie Verwendung einer niederen Temperatur ist ohne Einfluß auf die antagonistischen Verhältnisse.

15. Die Wirkung des Filtrierpapiers auf das Wurzelwachstum kann zum Teil durch antagonistische Erscheinungen erklärt werden. Der Ca-Ionengehalt des Filtrierpapiers bewirkt eine Änderung der Wachstumsverhältnisse. Die störenden Ionen können durch Extraktion mit HCl entfernt werden. Quantitative Filter zeigen die ionalen Störungen nicht.

16. Qualitatives Filtrierpapier enthält außerdem einen wachstumsfördernden Faktor, der sich durch HCl-Extraktion, und einen hemmenden Faktor, der sich durch H_2O-Extraktion entfernen läßt. Quantitative Filter enthalten nur den hemmenden Faktor.

17. Auf Grund der erhaltenen Ergebnisse, besonders einer in Abschnitt V zusammengefaßten vergleichenden Erfassung der Wirkungen der einzelnen Ionen aufeinander, wird unter Berücksichtigung der vorhandenen Literatur eine Theorie des Ionenantagonismus diskutiert. Sie stützt sich sowohl auf Oberflächenwirkungen als auch auf Wirkungen im Plasmainnern. (Zusammenfassung auf S. 432).

Die vorliegende Arbeit ist die gekürzte Fassung eines Manuskriptes, das von der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Greifswald als Promotionsschrift angenommen wurde. Sie wurde durch Herrn Prof. Dr. H. Borriss angeregt. Ich möchte ihm hierfür und für sein stetes Interesse meinen Dank sagen.

Literatur.

Benecke: Ber. dtsch. bot. Ges. **25**, 322 (1907). — Borriss: Jb. wiss. Bot. **85**, 732 (1937); **89**, 254 (1941); **91**, 83 (1944). — Ernähr. Pflanze **35**, 289 (1939). — Chambers and Reznikoff: J. Gen. Physiol. **8**, 369 (1926). — Eiselsberg: Biol. Generalis (Wien) **13**, 529 (1937). (Hier auch weitere Literatur.) — Eisenmenger: Bull. Torrey Bot. Club **55**, 261 (1928). (Hier auch weitere Literatur.) — Fitting: Jb. wiss. Bot. **67**, 427 (1928). — Hansteen: Jb. wiss. Bot. **47**, 289 (1910). — Hassan u. Overstreet: Soil Sci. **73**, 315 (1952). — Höber: Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Leipzig 1926. — Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe (deutsche Übersetzung). Bern 1947. — Höfler: Protoplasma (Berl.) **33**, 545 (1939). — Kaho: Biochem. Z. **123**, 284 (1921); **167**, 25 (1926). — Erg. Biol. **1**, 380 (1926). — Mevius: Jb. wiss. Bot. **66**, 183 (1927); **69**, 119 (1928). — Moewus: Biol. Zbl. **68**, 118 (1949). — Osterhout: Univ. California Publ. Bot. **2** (1906a); **2**, 317 (1907b). — Bot. Gaz. **42**, 127 (1906b); **44**, 259 (1907a); **45**, 117 (1908). — Jb. wiss. Bot. **46**, 121 (1909). — Science (Lancaster, Pa.) **44** (1916). — J. of Biol. Chem. **34**, 363 (1918). — J. Gen. Physiol. **4** (1922). — Pätau: Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Pirschle: Jb. wiss. Bot. **72**, 335 (1930); **76**, 1 (1932). — Planta (Berl.) **23**, 177 (1935). — Port: Acta Comment. Univ. Tartuensis A **12** (1932). — Probst: Planta (Berl.) **4**, 651 (1927). — Rubinstein: Protoplasma (Berl.) **4**, 259 (1928). (Hier auch weitere Literatur.) — Scarth: Proc. Trans. Roy. Soc. Canada, III. ser. **18** (Sect. V), 97 (1927). — Spek: Protoplasma (Berl.) **4**, 321 (1928); **9**, 370 (1930). — Wuhrmann: Protoplasma (Berl.) **29**, 361 (1938).

Dr. E. Libbert, Berlin,
Institut für landwirtschaftliche Botanik, Invalidenstr. 42.

Planta, Bd. 41, S. 436—438 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Frankfurt a. M.

Kurze Mitteilung.

PHOTOSYNTHESE UND ATMUNG BEI XEROSTABILEN UND XEROLABILEN KRUSTENFLECHTEN IN DER NACHWIRKUNG VORAUSGEGANGENER ENTQUELLUNGEN.

Von

AUGUST RIED.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. März 1953.)

An den Ufersteinen von Bächen und Süßwasserseen finden sich zuweilen ähnlich markante Vertikalzonierungen der Flechtenvegetation

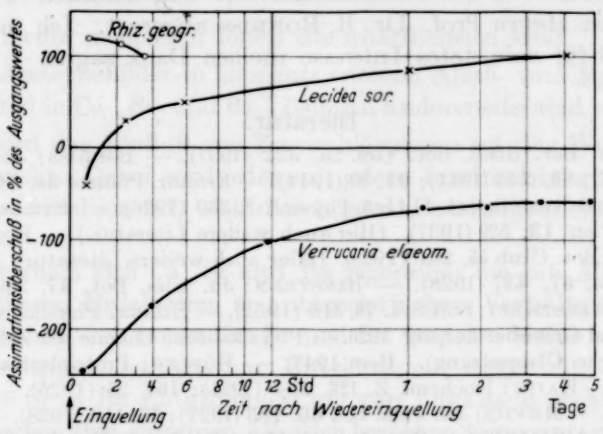


Abb. 1. Assimilationsüberschuß von *Rhizocarpon geographicum* (○), *Lecidea soredizodes* (×) und *Verrucaria elaeomelaena* (●) nach vorausgegangener 24stündiger Entquellung über 96%iger Schwefelsäure bei 20° C (rel. Luftfeuchtigkeit ~ 1%).

(SANTESSON 1939), wie dies für marine Flechten und Algen bekannt ist. Eine funktionelle Prüfung der Charakterarten (Krustenflechten) verschiedener Zonen auf ihre Fähigkeit, vorausgegangene verschieden lange und verschieden intensive Entquellungsperioden zu überwinden (Kriterien: Assimilation und Atmung), ergab eine ähnliche Übereinstimmung zwischen den Abstufungen der Entquellungsresistenz und den Feuchtigkeits- und Überflutungsbedingungen in den von den betreffenden Flechten besiedelten Zonen, wie dies MONTFORT 1937 bei marinen Algen fand.

Methodik. Passend zurechtgemeißelte, ganz mit einer der Charakterarten bedeckte Gesteinsstücke werden ~2 Monate unter konstanten Bedingungen (Licht, Temperatur, Luftfeuchtigkeit) gehalten [Ausschließung etwaiger kurzfristig wirksamer Prägungen (HÖFLER 1950)]. Wiederholte Feststellung der normalen Assimilations- und Atemwerte eines jeden Thallus (Preßluft, CO_2-Bestimmung durch Absorption an Barytlauge und abschließende Titration; Fehlergrenze $\pm$ 0,014 mg CO_2 ~ $\pm$ 1 bis $\pm$ 5% der normalen Assimilations- und Atemwerte. Submers lebende Flechten werden mit der Winkler-Methode geprüft. Gelegentliche Wiederholung

einer Versuchsreihe mit der anderen Methode (CO_2-Bestimmung) ergibt gute Übereinstimmung für beide Methoden, z. B. entspricht einer gesteigerten O_2-Aufnahme eine im gleichen Maße erhöhte CO_2-Abgabe). Entquellung im Exsikkator über Schwefelsäure-Wassergemischen bei konstanter Temperatur, bei längerer Entquellungsdauer in einem wenig benutzten Raum unter ständiger Kontrolle der Luftfeuchtigkeit. Gleichzeitige Prüfung von Assimilation und Atmung nach Wiedereinquellung an 2 gleichartig behandelten Parallelthalli. Verfolgung der Erholung über 5 Tage.

Abb. 1 und 2 zeigen das Verhalten von 3 verschiedenen Reaktionstypen nach gleichartiger vorausgegangener Entquellung (24 Std über 96%iger H_2SO_4). Während die Assimilation von *Rhizocarpon geographicum* aus dem obersten, auch im Winter nicht überspülten Horizont durch diese energische Entquellung auf ~ 1% des maximalen Wassergehalts überhaupt nicht beeinflußt wird — auch die Atmung weist nur eine kurzfristige Steigerung auf — macht sich schon bei der in der darunterliegenden Zone und sonst im feuchten Waldschatten verbreiteten *Lecidea soredizodes* (nur auf ~ 6% entquollen) eine kräftige, erst nach Tagen völlig reversible Depression der apparenten Assimilation geltend, der eine ebenso intensive Atmungssteigerung entspricht. Dieser tiefgreifende Unterschied in der Reaktion der beiden Typen ist nur durch Berücksichtigung dynamischer Kriterien zu erfassen und bliebe der Untersuchung mit Hilfe statischer, zellphysiologischer Kriterien verborgen (Montfort und Hahn 1950).

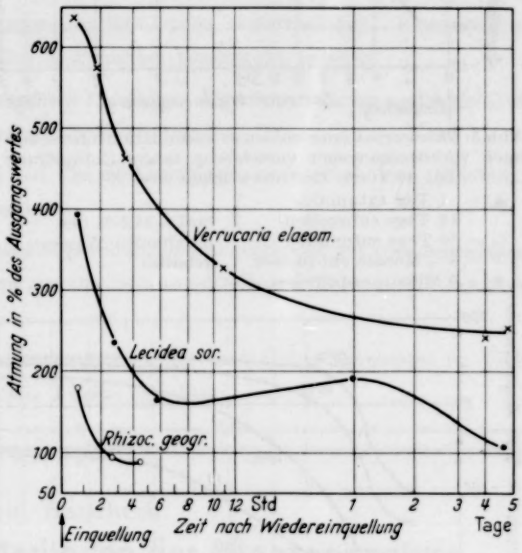


Abb. 2. Atmung, sonst wie Abb. 1.

Verrucaria elaeomelaena (auf ~ 8% entquollen) aus dem untersten, ständig überfluteten Horizont reagiert noch ungleich empfindlicher. Sowohl die außerordentliche Steigerung der Atmung wie auch die tiefe Depression der Assimilation sind nur zu einem geringen Teil reversibel. Solche starken Depressionen des Assimilationsüberschusses sind bei *Lecidea* und *Verrucaria* nicht nur auf die Atmungssteigerung zurückzuführen. Nach starker Entquellung kann bei beiden Flechten die Photosynthese ganz unterbunden sein, so daß bei Belichtung sogar erheblich höhere Atemwerte auftreten als im Dunkeln.

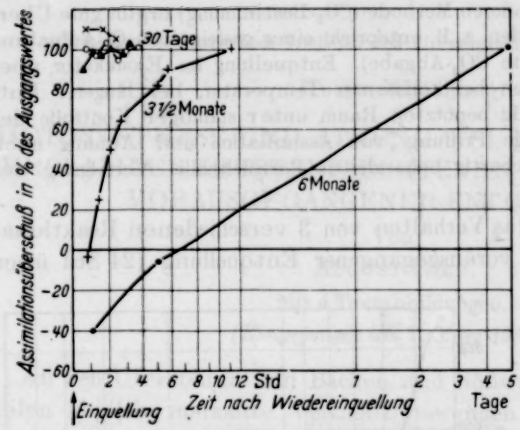


Abb. 3. *Rhizocarpon geographicum*. Assimilationsüberschuß nach vorausgegangener verschieden langer Entquellung bei 60 % rel. Luftfeuchtigkeit und 20° C.

▲ = 1 Tag entquollen
× = 12 Tage entquollen
○ = 30 Tage entquollen
\+ = 3½ Monate entquollen
● = 6 Monate entquollen

(auf ~13,5 % des maximalen Wassergehalts)

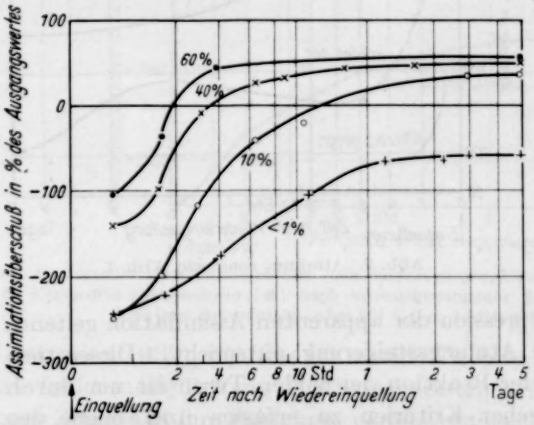


Abb. 4. *Verrucaria elaeomelaena*. Assimilationsüberschuß nach vorausgegangener 24stündiger Entquellung bei verschiedener rel. Luftfeuchtigkeit und 20° C.

● = bei 60 % rel. Luftfeuchtigkeit entquollen (auf ~32 % des maximalen Wassergehalts),
× = bei 40 % rel. Luftfeuchtigkeit entquollen (auf ~24 % des maximalen Wassergehalts),
○ = bei 10 % rel. Luftfeuchtigkeit entquollen,
\+ = bei <1 % rel. Luftfeuchtigkeit entquollen (auf ~8 % des maximalen Wassergehalts)
(über konzentrierter Schwefelsäure).

Sowohl die zeitliche Ausdehnung eines Entquellungsgrades (Abb. 3) wie auch die Einwirkung abgestuft höherer Entquellungsgrade (Abb. 4) führen zu einer kräftigeren und länger anhaltenden Senkung der Assimilation (bzw. Steigerung der Atmung). Dabei zeigen sich erst voll die starken Gegensätze im Verhalten der Reaktionstypen. *Rhizocarpon geographicum* erträgt selbst 6monatige Entquellung ohne bleibende Schädigung, während *Verrucaria elaeomelaena* schon nach 24stündiger Entquellung bei gleicher Luftfeuchtigkeit irreversible Schäden erleidet. Zwischen den 3 vorgeführten Typen gibt es noch weitere Abstufungen der Empfindlichkeit. Eine ausführliche Darstellung dieser Verhältnisse wird demnächst erfolgen.

Literatur.

HÖFLER, K.: Ber. dtsch. bot. Ges. **63**, 3 (1950). — KALTWASSER, J.: Protoplasma (Berl.) **29**, 498 (1937). — MONTFORT, C.: Ber. dtsch. bot. Ges. **55**, 85 (1937). — MONTFORT, C., u. H. HAHN: Planta (Berl.) **38**, 503 (1950). — MONTFORT, C., u. A. RIED: Im Druck. — RIED, A.: Diss. Frankfurt 1953. — SANTESSON, R.: Medd. från Lunds Univ. Limnolog. Inst. Lund **1939**. — STÅLFELT, M.: Bot. Not. (Lund) **1939**, 176.

Dr. AUGUST RIED, Botanisches Institut der Universität Frankfurt a. M.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Die Vorbereitungen für ein Handbuch

Moderne Methoden der Pflanzenanalyse

an welchem bekannte Spezialisten aus den USA., aus England, der Schweiz, Deutschland und anderen Ländern mitarbeiten, sind so weit fortgeschritten, daß das Werk in absehbarer Zeit im *Springer-Verlag* erscheinen kann. Es wird kritisch ausgewählte Methoden für die qualitative und quantitative Bestimmung und für die Isolierung aller Gruppen von Pflanzenstoffen enthalten und soll dadurch eine zuverlässige, auf den Laboratoriumsgebrauch zugeschnittene Anleitung zur Pflanzenanalyse für alle Zweige der reinen und angewandten Botanik sowie für die Nachbarwissenschaften (Pharmakognosie, Landwirtschafts-, Forst-, Gartenbauwissenschaft usw.) bieten.
Die Herausgeber und Mitarbeiter sind bemüht, das weite Feld der in Betracht kommenden Naturstoffe unter Verwertung aller Kenntnisse möglichst lückenlos zu erfassen. Sie würden es deshalb dankbar begrüßen, wenn Forscher, die sich mit der Analyse von Pflanzenmaterial befassen, Sonderdrucke solcher Arbeiten, die für das geplante Werk von Bedeutung sein könnten, an einen der Herausgeber senden würden, der sie dann an die Bearbeiter des betreffenden Kapitels weiterleiten wird.

Die Herausgeber:

Professor Dr. K. Paech
Tübingen
Botanisches Institut

M. V. Tracey, M. A.
Rothamsted Experimental Station
Harpenden, Herts. (England)

Verständliche Wissenschaft

Aus dem Leben der Bienen

Von Dr. **Karl v. Frisch,** Professor der Zoologie und Direktor des Zoologischen Instituts an der Universität München. Fünfte, neubearbeitete und ergänzte Auflage. 21.—26. Tausend. (Band 1). Mit 101 Abbildungen, davon 2 farbig. VII, 159 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

Die Lehre von der Vererbung

Von Professor Dr. **Richard Goldschmidt,** Zoologisches Institut der University of California Berkeley, Cal. (USA). Vierte, verbesserte und vermehrte Auflage. (Band 2). Mit 48 Abbildungen. VIII, 212 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 7.80

Wetter und Wetterentwicklung

Von **Heinrich Ficker,** Professor für Meteorologie und Geophysik an der Universität Wien. Vierte, verbesserte und vermehrte Auflage. (Band 15). Mit 42 Abbildungen und 11 Karten. VII, 140 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 7.80

Schlaf und Traum

Von Prof. Dr. **Hans Winterstein,** Istanbul. Zweite, erweiterte Auflage. 6. bis 11. Tausend. (Band 18). Mit 25 Abbildungen. Etwa 160 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

Die Welt der Sinne

Eine gemeinverständliche Einführung in die Sinnesphysiologie.

Von **W. v. Buddenbrock,** o. ö. Professor der Zoologie an der Universität Mainz. Zweite, neubearbeitete Auflage. 6.—11. Tausend. (Band 19). Mit 55 Abbildungen. VIII, 147 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

Baum und Wald

Von **Ludwig Jost,** weil. o. Professor an der Universität Heidelberg. Zweite, durchgesehene Auflage besorgt von **Fritz Overbeck,** o. Professor an der Universität Kiel. (Band 29). Mit 71 Abbildungen. VIII, 148 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 7.80

Die Staaten der Ameisen

Von Dr. **Wilhelm Goetsch,** Honorarprofessor an der Universität Graz, em. Direktor des Zoologischen Instituts und Museums der Universität Breslau. Zweite, ergänzte Auflage. (Band 33). Mit 84 Abbildungen. Etwa 160 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

Sichtbares und unsichtbares Licht

Von Dr. **Eduard Rüchardt,** o. Professor für Physik an der Universität München. Zweite, verbesserte Auflage. (Band 35). Mit 137 Abbildungen. VIII, 168 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 7.80

Kleine Erdbebenkunde

Von Dr. **Karl Jung,** o. Professor z. Wv., apl. Professor an der Bergakademie Clausthal, Lehrbeauftragter an der Universität Kiel. Zweite, verbesserte Auflage. (Band 37). 6.—11. Tausend. Mit 101 Abbildungen. V, 158 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

Ebbe und Flut des Meeres, der Atmosphäre und der Erdfeste

Von Univ.-Professor Dr. **Albert Defant,** Innsbruck. 1.—6. Tausend. (Band 49). Mit 64 Abbildungen. VII, 119 Seiten. 1953. Ganzleinen DM 7.80

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen ein Prospekt von Walter de Gruyter & Co., Berlin, und zwei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.